

519, 047

Recd PCT/PTO 22 DEC 2004

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004年1月8日 (08.01.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/002978 A1(51) 国際特許分類⁷: C07D 307/84, A61K 31/343, A23L 1/30, 1/28, 2/00, C12C 5/00, C12G 3/00, A61K 35/72, 35/78, A61P 1/00, 1/14, 13/02, 43/008203 大阪府 大阪市北区堂島浜 2丁目1番40号
Osaka (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/008081

(72) 発明者; および

(22) 国際出願日: 2003年6月26日 (26.06.2003)

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 諏訪 芳秀
(SUWA,Yoshihide) [JP/JP]; 〒567-0009 大阪府 茨
木市山手台 6丁目 7-16 Osaka (JP). 藤居 亘
(FUJII,Wataru) [JP/JP]; 〒567-0031 大阪府 茨木市
春日 1丁目 5-3 5-2 04 Osaka (JP). 堀妃佐
子 (HORI,Hisako) [JP/JP]; 〒565-0817 大阪府 吹田
市長野西 17-11-906 Osaka (JP). 横尾 芳明
(YOKOO,Yoshiaki) [JP/JP]; 〒567-0815 大阪府 茨
木市竹橋町 13-1-3 05 Osaka (JP). 糸谷 東雄
(NUKAYA,Haruo) [JP/JP]; 〒424-0884 静岡県 静岡
市清水草薙杉道 1丁目 5-5 Shizuoka (JP). 辻邦郎

(25) 国際出願の言語: 日本語

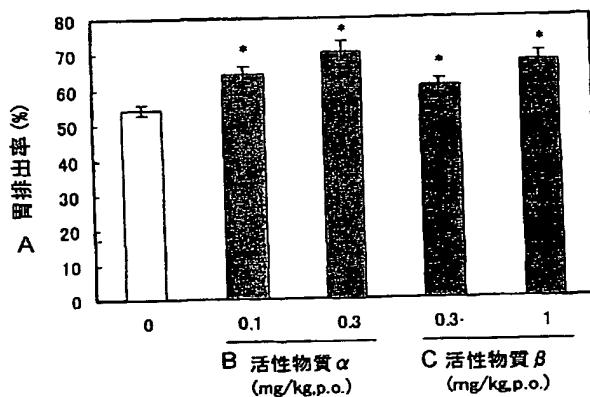
/統葉有/

(26) 国際公開の言語: 日本語

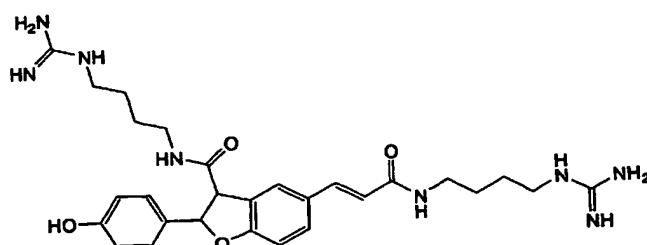
(30) 優先権データ:
特願2002-186029 2002年6月26日 (26.06.2002) JP
特願2003-010426 2003年1月17日 (17.01.2003) JP(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): サント
リー株式会社 (SUNTORY LIMITED) [JP/JP]; 〒530-

(54) Title: REFRESHMENT CAPABLE OF STIMULATING MOVEMENT OF DIGESTIVE TRACT

(54) 発明の名称: 消化管運動促進飲食物



A...STOMACH EXCRETION RATIO (%)
B...ACTIVE SUBSTANCE α
C...ACTIVE SUBSTANCE β



WO 2004/002978 A1

BEST AVAILABLE COPY

/統葉有/



(TSUJI,Kuniro) [JP/JP]; 〒422-8005 静岡県 静岡市 池田 1 3 7 5 - 1 1 Shizuoka (JP).

(74) 代理人: 草間 攻 (KUSAMA,Osamu); 〒102-0072 東京都 千代田区飯田橋 4 丁目 5 番 12 号 岩田ビル 7 階
草間特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): CA, CN, JP, KR, US.

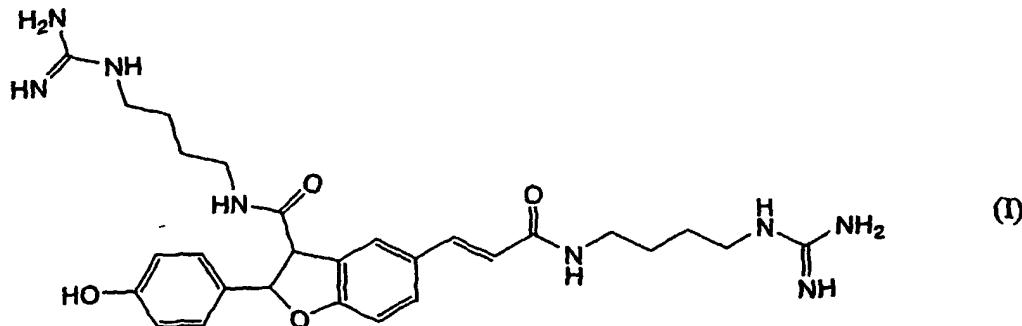
(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).

添付公開書類:
— 國際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(57) 要約:

次式 (I)



示される化合物（立体異性体である活性物質 α および活性物質 β ）であって、天然物由来であることから副作用もなく、長期連用においても安全性が高く、飲食物などの添加剤等として広く活用できる消化管運動促進作用物質の提供、ならびに該作用物質を含む添加剤を含有する飲食物の提供である。

具体的には、ビールから単離・精製して得たムスカリーン M₃受容体に作用する消化管運動促進物質であり、ドリンカピリティー促進作用を有する物質であり、またこれら物質を含有する天然物または天然加工品より得た組成物であり、これらの物質または組成物を飲食物用の添加剤として活用して、消化管運動促進性の飲食物が提供される。

明細書

消化管運動促進飲食物

5 技術分野

本発明は、ムスカリンM₃受容体に作用する物質に関し、詳細には、消化管運動促進作用、胃酸分泌促進、排尿促進、食欲増進作用あるいはドリンクアビリティ一促進作用等を有する物質に関する。

また本発明は、当該物質それ自体、あるいは当該物質を含有する天然物または天然物加工品、あるいは組成物を利用した各種飲食物に関し、特に、消化管運動促進作用またはドリンクアビリティ一促進作用を利用した飲食物に関する。

背景技術

ヒトが摂取した食物は、消化器系の各部で種々の消化を受け、栄養素の大部分が小腸で吸収されたのち、排泄されている。これらの消化・吸収作用が順序よく行われるためには、食物をその消化の状態に応じて順次消化器系の中を移動させる必要がある。すなわち、消化管運動は食物消化のために内容物の輸送、貯蔵、攪拌・混和、そして排出に至る消化のプロセスの進行をつかさどる重要な生理機能である。

消化管内の内容物は、消化管壁を構成する平滑筋の規則正しい収縮運動（蠕動運動）による消化管運動により輸送、貯蔵、攪拌・混和等が行われており、この消化管運動は、神経性および体液性の調節を受けている。神経性調節には自律神経系の二重支配と、消化管壁内神経の支配が存在するが、その主体はコリン作動性の副交感神経節後纖維である。一方、体液性調節は、消化管ホルモンによるものである。

これらの調節機構のバランスが乱れ、消化管運動機能に障害が生じると、消化のプロセスの各段階での障害が引き起こされ、その結果、嚥下困難、むねやけ、悪心、嘔吐、腹痛、腹部膨満、下痢、便秘などの消化器症状が出現する。特に、

近年のストレス過多の社会において、潰瘍や癌などの器質的な病変が認められないにも拘わらず、このような消化器症状を訴えるという症例が増えてきている。従来、わが国ではこの疾患は慢性胃炎とされ、治療に明確な指針がなかったが、消化器病の診断学の進歩により、こうした症例の多くは、胃内容物の排出遅延を中心とした消化管運動機能異常が原因であることが明らかになり、胃炎とは明確に区別して functional dyspepsia (機能性ディスペプシア) あるいは non-ulcer dyspepsia (NUD) と呼ばれるようになってきている。また、高齢者において胃壁の筋肉の緊張性が減弱することによって生ずる胃アトニー症や、神経性消化不良、胃神経症などの精神心理学的要因による症状も、この疾患に含まれる。さらに、術後の消化管運動の低下症状や、抗ガン剤の投与による食欲不振なども、近年問題となってきた。

近年、消化管運動に関わる受容体の研究が進み、消化管運動の神経性調節機構の詳細が明らかになってきた。大部分の消化管の運動は、主に副交感神経の節後纖維である壁内コリン作動性神経によって調節されている。この神経終末より放出されるアセチルコリンが平滑筋のムスカリンM₃受容体に結合して平滑筋の収縮を引き起こし、このアセチルコリンがコリンエステラーゼで分解されると、平滑筋は元に戻る。この収縮と回復の反復頻度が高まると運動が促進されることになる。

したがって、ムスカリンM₃受容体アゴニストとして作用する物質は、消化管平滑筋を収縮させ消化管運動を促進させることとなり、消化管運動機能の低下に基づく消化器症状の改善を促し、極めて有効な消化管運動促進作用物質となる。

ところで、飲食物の中でもアルコール含有飲料は、上部消化管の運動性に影響を及ぼすことが知られている。例えば、Pfeiffer ら (Clin. Investig., Vol. 70, pp 487-491, 1992) は、ビールが胃の排出運動を促進させ、胃-盲腸通過時間を短縮させること、逆に、ビールと同程度の濃度 (7. 5 %) のエタノールは胃の排出運動を抑制することを報告している。また、胃排出の速いビールほどドリンクアビリティーが高いことを示す興味深い報告もある (Biosci. Biotechnol.

Biochem., Vol. 62, pp 846-851, 1998)。

ビールのドリンカビリティーとは、ビールを大量に飲んでもまだおいしく飲める性質のことをいい、ヨーロッパではバイタートリンケンあるいはドリンカビリティーと呼ばれ、ビールの評価を決める重要な要因の一つとされている。したがって上記した研究結果から、ビールには消化管運動促進作用、あるいはドリンカビリティー促進作用物質が含有されており、その作用はアルコール成分以外の物質に由来するものと考えられていたが、かかる活性物質については未だ明らかとなつておらず、その特定が望まれていた。

先に本発明者らは、ビールの乾燥物に胃排出促進作用があることをマウスにおいて実証し、さらに、受容体結合性試験やモルモット回腸縦走筋の収縮性試験によってビール乾燥物の作用メカニズムについて検討した結果、ビール乾燥物はムスカリーンM₃受容体を刺激することによって消化管運動を促進する作用があることを明らかにした (Alcoholism: Clinical & Experimental Research, Vol. 26, No. 5, pp 677-681, 2002)。

したがつて、ビール中に含有される消化管運動促進物質、あるいはドリンカビリティー促進物質を特定し、かかる物質を提供することは、ムスカリーンM₃受容体に作用する物質として、消化管運動促進作用、ドリンカビリティー促進作用、胃酸分泌促進、排尿促進あるいは食欲増進作用等を有する物質の提供につながるものであり、極めて有用なことである。

一方、ビールの原料となる大麦等について、その微量含有成分に関し種々研究がなされており、米国特許第3, 475, 459号には、大麦から得られた抗真菌作用物質として Hordatine A が示されている。しかしながら、Hordatine A の立体構造についてはデータに基づいた詳細な検討は成されておらず、また、幾何異性体の存在は知られていない。さらに、抗真菌作用以外の作用、特にムスカリーンM₃受容体に対する作用については、一切論じられていない。

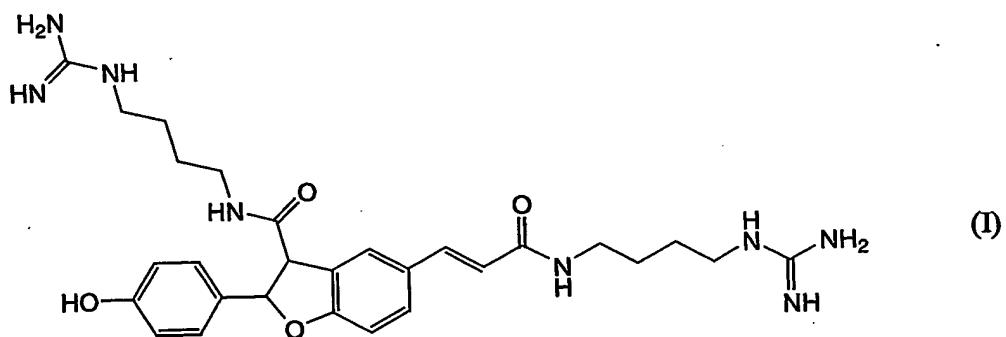
本発明は、ビールからムスカリーンM₃受容体に作用する活性本体、すなわち、消化管運動促進作用の活性本体を単離して物質を特定すると共に、かかる物質を

各種機能性飲食物に応用させ、かかる消化管運動促進物質を利用した消化管運動促進作用剤、胃酸分泌促進作用剤、排尿促進作用剤、食欲増進作用剤およびドリンカビリティー促進剤等を提供することを課題とする。

本発明者らは、上記の課題を解決するべく銳意研究を重ね、ムスカリーンM₃受容体への結合活性を指標として、ピール中から消化管運動促進物質の精製を試みた。その結果、ピールから、計4ステップの液体クロマトグラフィーにより、最終的に、ムスカリーンM₃受容体への結合活性物質を単離するとともに、その構造を決定し、本発明を完成させた。

10 発明の開示

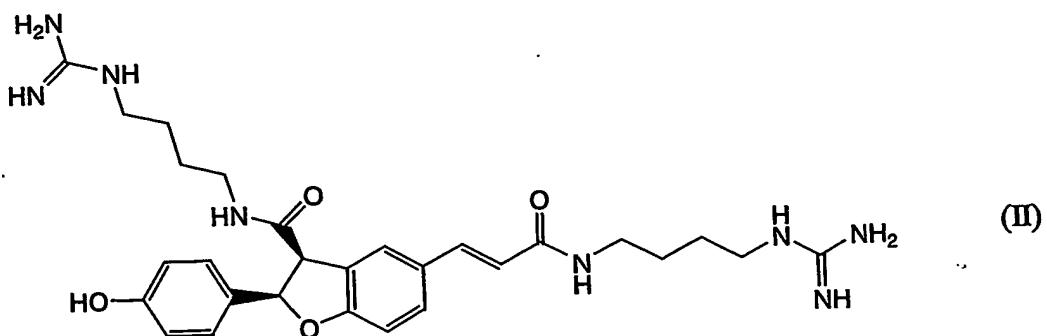
したがって、本発明の一つの態様は、次式（I）：



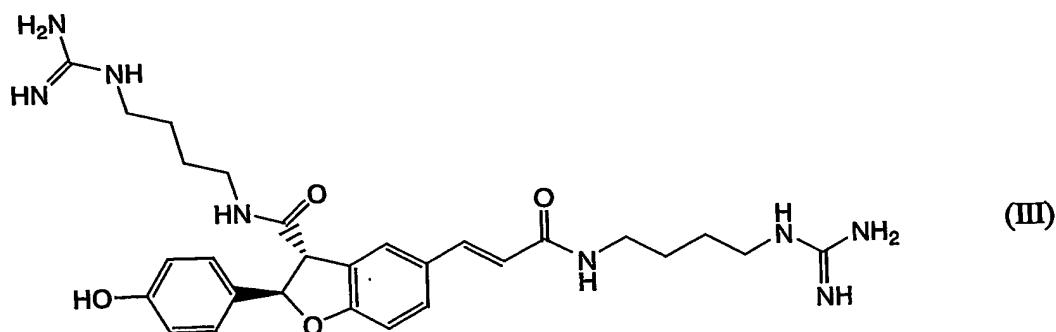
で示される化合物について、その立体構造を明らかにし、かかる化合物を提供することを基本とする。

すなわち本発明者らは、上記式（I）の化合物について、その2種の異性体（活性物質α、および活性物質β）を分離し、それぞれの活性物質αおよび活性物質βについて、紫外吸収スペクトル、質量分析スペクトル、および核磁気共鳴スペクトルデータ等の解析により、その立体構造を特定させた。

したがって、本発明の具体的態様としては、上記式（I）で示される化合物の異性体である、式（II）：



で示される活性物質 α （以下、単に「活性物質 α 」と称する）を提供し、また式
(III) :



5 で示される活性物質 β （以下、単に「活性物質 β 」と称する）を提供する。

本発明で提供される上記式(I)で示される化合物は、分子中に2個の不斉炭素を有している。したがって本発明が提供する化合物(I)には上記の通り立体異性体が存在するが、本発明の上記式(I)中には、その立体異性体の個々の化
10 合物、さらにはその立体異性体の混合物も包含される。

また、上記の立体異性体であるシス体：式(II)またはトランス体：(III)
で示される化合物には、鏡像異性体が存在する。本発明の活性物質 α は第13図に示したCDスペクトルを、また活性物質 β は第14図に示したCDスペクトルを示す絶対配置を持つものであるが、本発明の式(I)または(II)で示される化合物中には、その鏡像体も包含される。

さらにまた、本発明で提供される式(I)～(III)で示される化合物は塩の形態をとることもでき、本明細書ならびに請求の範囲においては、式(I)～(III)で示される化合物中には、かかる塩も包含される。

なお、式(I)～(III)の化合物の構造について付言すると、当該化合物はp-Coumaroylagmatineの二量体である。p-Coumaroylagmatineはフェノール基とアミド基の間に二重結合を有している。シス体のp-Coumaroylagmatineで二量体を構成する場合には、式(I)の五員環部分がシス式、すなわち、式(I I I)の立体構造となる。

一方、式(I I)については、五員環部分がシス式、二重結合部分がトランス体である。シス体同士、あるいはトランス体同士のp-Coumaroylagmatineの二量体では、通常、取り得ない立体構造を有している。すなわち、本発明者らは、式(I I)の化合物は、天然物として極めて珍しい構造であることを見出した。

また、本発明は、活性物質 α および活性物質 β の分離・精製方法を提供するものでもあり、具体的には、ピールを出発材料とし、凍結乾燥により揮発性成分を除いて非揮発性成分を回収し、合成吸着剤クロマトグラフィーにより非吸着部を除いて吸着部を回収し、活性物質が濃縮された粗精製画分を得、さらに、弱酸性陽イオン交換クロマトグラフィーで非吸着部を除き、酸性メタノール(メタノール-塩酸)で活性物質を溶出し、次いで、0.01N-塩酸下においてゲル濾過クロマトグラフィーを行うことにより精製画分を得、さらに、ODS-HPLC(C₁₈-高速液体クロマトグラフィー)による高度精製を行い、2種の活性物質を単離する方法を提供する。このようにして得られた活性物質は、共に水溶性であった。

この2種の活性物質 α および β は、高速液体クロマトグラムにより、それぞれ単一ピークであることが確認され、また、ムスカリーンM₃受容体の結合性試験において、当該受容体に対する親和性を有することが確認された。特に、マウスにおける胃排出能促進活性を指標として消化管運動に及ぼす影響について検討した結果、当該活性物質 α および β は、強い消化管運動促進作用を有することが確認できた。

ところでムスカリーンM₃受容体は小腸だけでなく、胃を構成する各種細胞表面に存在し、アセチルコリンは胃の生理機能の発現に重要な役割を果たしている。すなわち、壁細胞、主細胞およびG細胞はムスカリーンM₃受容体を介したアセチ

ルコリンの刺激によって、それぞれ胃酸、ペプシノーゲンおよびガストリンの分泌を促進し、胃平滑筋は収縮することが知られている。

さらに、膀胱の平滑筋（排尿筋）にもムスカリンM₃受容体が存在しており、アセチルコリンの作用によって平滑筋が収縮し、排尿が促されることが明らかに
5 なっている。

本発明により提供される活性物質αおよびβは、ムスカリンM₃受容体に対する作用を有していることから、消化管運動促進作用のみならず、ムスカリンM₃受容体の多様な生理作用に起因する排尿促進作用、胃酸分泌促進作用、および食欲増進作用を有するものであり、したがって、催吐性軽減や、味覚忌避軽食の効
10 果も期待できる化合物である。

したがって本発明は、また別の態様として、消化管運動促進作用、胃酸分泌促進、排尿促進、食欲増進作用あるいはドリンカビリティー促進作用等を有する上記式（I）～（III）で示される活性物質を提供する。

15 さらに本発明者らは、ピールから単離した当該活性物質（α、β）の由来を検討するべく、かかる活性物質を多く含む各種素材をスクリーニングした結果、酵母発酵産物、大麦、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物に、当該活性物質が含まれることを見出した。特に、発芽した大麦の分画物の一つである麦芽根には、当該物質が高濃度で含有されていることを見出した。

20 そこで、当該活性物質を高濃度で含有する麦芽根の抽出物について、マグヌス法を用いてモルモットの回腸縦走筋の収縮に及ぼす影響を検討した結果、麦芽根抽出物は、回腸縦走筋を強く収縮させ、消化管運動促進作用を有することを確認した。

したがって、本発明はさらまた別の態様として、上記式（I）～（III）で示される活性物質、ならびにそれら活性物質を含有する天然物、または天然加工品、あるいは組成物を利用した、消化管運動促進作用またはドリンカビリティー促進作用を有する各種飲食物、飲食物添加物、医薬品、動物用飼料を提供する。
25

より具体的には、本発明は、上記式（I）～（III）で示される活性物質、

ならびにそれら活性物質を含有する天然物、または天然加工品、あるいは組成物として、特に麦芽根を利用した各種飲食物、飲食物添加物、医薬品、動物用飼料を提供する。

さらに具体的には、本発明は、かかる飲食物として、アルコール飲料、ノンアルコール飲料、健康食品、特別用途食品を提供する。

5 ルコール飲料、健康食品、特別用途食品を提供する。

図面の簡単な説明

第1図は、参考例1による、ビール乾燥物の分画物の [³ H] 4-DAMP結合に対する阻害曲線を示すグラフである。

10 第2図は、実施例1の、ビール中の消化管運動促進物質の分離・精製のフローを示す図である。

第3図は、実施例1で得られた本発明の活性物質 α のHPLCクロマトグラム図である。

15 第4図は、実施例1における本発明の活性物質 α の [³ H] 4-DAMP結合に対する阻害曲線を示すグラフである。

第5図は、実施例1における本発明の活性物質 β の [³ H] 4-DAMP結合に対する阻害曲線を示すグラフである。

第6図は、実施例2の活性物質 α および活性物質 β の紫外吸収スペクトルデータを示すグラフである。

20 第7図は、実施例2の活性物質 α の質量分析スペクトルデータを示すグラフである。

第8図は、実施例2の活性物質 β の質量分析スペクトルデータを示すグラフである。

25 第9図は、実施例2における活性物質 α の核磁気共鳴 (¹H-NMR) スペクトル解析図である。

第10図は、実施例2における活性物質 β の核磁気共鳴 (¹H-NMR) スペクトル解析図である。

第11図は、実施例2における活性物質 α の核磁気共鳴 (¹³C-NMR) スペ

クトル解析図である。

第12図は、実施例2における活性物質 β の核磁気共鳴($^{13}\text{C}-\text{NMR}$)スペクトル解析図である。

第13図は、実施例2における活性物質 α のCDスペクトル解析図である。

5 第14図は、実施例2における活性物質 β のCDスペクトル解析図である。

第15図は、実施例3におけるマウスにおける活性物質 α および活性物質 β の胃排出能促進効果の結果を示すグラフである。

第16図は、実施例4の麦芽根から抽出・部分精製した組成物のHPLCクロマトグラムを示す図である。

10 第17図は、実施例5のモルモットにおける当該活性物質を含有する麦芽根抽出物の回腸縦走筋の収縮作用を示すグラフである。

第18図は、実施例6のヒトにおける消化管運動促進性物質配合飲食物(アルコール飲料)の排尿促進作用の結果を示すグラフである。

15 第19図は、実施例7のラットにおける消化管運動促進性物質配合飲食物(ノンアルコール飲料)のドリンカビリティー促進作用の結果を示すグラフである。

第20図は、実施例8のヒトにおける消化管運動促進性物質配合飲食物(ピール)のドリンカビリティー促進作用の結果を示すグラフである。

発明を実施するための最良の形態

20 以下に、本発明が提供する式(I)～(III)で示されるムスカリーンM₃受容体に対する作用を有する活性物質の単離・精製、その特性等を詳細に説明することにより、本発明を詳細に説明していく。

本発明が提供するムスカリーンM₃受容体に対する作用を有する式(I)～(III)で示される活性物質は、具体的には、ピールから4ステップの液体クロマトグラフィーを適宜組み合わせ、単離・精製することができる。より具体的には、ピールを凍結乾燥することにより揮発性成分を除き、得られた非揮発性成分を、合成吸着剤、例えば、アンバーライトXAD-2、ダイアイオンHP-20を用いたクロマトグラフィーに供して非吸着部を除き、吸着部をアルコール、或いは

メタノールにて溶出し、活性物質が濃縮された粗精製画分を得た。

次いで、上記で得られたアルコール溶出部を、さらに、弱酸性陽イオン交換クロマトグラフィー、例えばCM-セファデックスC-25カラムクロマトグラフ

ィーにて非吸着部を除き、吸着部から、酸性メタノール（メタノール-塩酸）で

5 活性物質を溶出した。

上記で得られた溶出分画を、0.01N-塩酸下におけるゲル濾過クロマトグラフィーを行うことにより精製画分を得、さらに、ODS-HPLC (C₁₈-高速液体クロマトグラフィー) による高度精製を行い、目的とする2種の活性物質（活性物質α、活性物質β）を単離することができた。

10 本発明にあっては、上記で単離・精製された活性物質をそのまま消化管運動促進成分として使用することもでき、また、そのような活性物質をそのまま用いる代わりに、ピール中より単離したムスカリンM₃受容体に作用する物質を含む天然物および天然物加工品を用いることができる。本発明において、天然物とは加工されていない穀物など（例えば、大麦）を指す。天然物加工品とは各種加工の施された天然物、例えば、酵母発酵産物、発芽した大麦、およびこれらの分画物などを指す。ここでいう分画物とは物理的に分けられた分画物（組織分画物）である。また、天然物、酵母発酵産物および発芽した大麦等を微粉末化するなどして、直接飲食可能な組成物の形態に加工したものも天然物加工品に含まれる。

20 これらの天然物、および天然物加工品は、本発明が目的とする飲食物、飲食物添加剤、医薬品、動物用飼料および消化管運動促進剤の特性に応じて、種々天然物および天然物加工品から、適宜活性物質を抽出・分離・精製する所望の段階での組成物として、使用することができる。本発明では、活性物質を含むこれら組成物も天然物加工品に含む。

25 本発明において、そのような原料物質として使用される酵母発酵産物とは、例えば、サッカロマイセス属の酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を用いた発酵により産生される産物を挙げることができる。より具体的には、ウイスキーなどの蒸溜酒を製造する際に得られる蒸溜残液のような酵母発酵産物の非揮発性画分、また、ピール、ワイン、清酒のような醸造酒等の酵母発酵産物を含む酵母発酵液

などを挙げることができる。

なお、このような酵母発酵産物から、本発明が目的をするムスカリンM₃受容体を介した消化管運動促進作用を有する画分を取得する方法としては、例えば次の方法により行うことができる。すなわち、上記した各種の酵母発酵産物から、

5 合成吸着剤（例えば、三菱化学社製：ダイヤイオンHP-20）等により吸着性成分を吸着し、次いで、吸着成分をメタノールあるいはエタノールなどのアルコールにより溶離させ、吸着画分から消化管運動促進画分を得る。

次いで、必要であれば、酸性pH条件下で陽イオン交換樹脂（例えば、ファルマシア社製：CMセファデックスC-25）に吸脱着して、酵母発酵産物の消化管運動促進画分成分として陽イオン成分を得、HPLC等で精製、またはエーテル等の有機溶媒中で結晶化して、高純度の活性物質を得ることができる。

また、別な手段として、大麦、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物から単離することもできる。本発明において大麦（英名：barley）とは、オオムギ属の植物のことをいい、学名は、特に限定されず、Hordeum vulgare L.、Hordeum distichon L.などが挙げられる。例えば、栽培上では、春播き（spring barley）、秋播き（winter barley）が挙げられ、また、種では、二条大麦と六条大麦が挙げられる。具体的な品種としては、日本においては、はるな二条、あまぎ二条、ミカモゴールデン、タカラゴールデンなどが挙げられ、海外においては、Alexis種、Schooner種、Harrington種、Orbit種、Corniche種、Triumph種が挙げられる。

20 また本発明において、発芽した大麦とは、大麦の穀粒が生長・発生したもののことのことをいい、麦芽製造においては、緑麦芽（生麦芽）と乾燥麦芽のことをいい、また、大麦の穀粒の栽培においては、若葉が出た状態のものや苗など、特に限定されない。麦芽製造における大麦の発芽の度合いは、生長中の大麦の温度、発芽中に供給される水分含量、発芽表層中の酸素と炭酸ガスの比率、発芽期間などの因子を管理することにより適宜決定できる。また、緑麦芽（生麦芽）の水分は、約40から45%、乾燥麦芽の水分は、約3～15%のものが挙げられる。

さらに、本発明において、発芽した大麦の分画物とは、穀皮部、でんぷん層（胚乳）、果皮および種皮、葉芽、若葉、苗、幼芽、アロイロン層画分、麦芽根、根芽

などの組織画分およびそれらの混合物のことをいい、特に限定されるものではない。このような発芽した大麦の分画物は、常法によって調製でき、具体的には、破碎法、篩い法、搗精法、風選法、比重差選別法、脱芒法などを挙げることができる。

5 そのなかにあっても、本発明においては特に、麦芽根（幼根ともいう）は、大麦の発芽時に生長／発根する幼根／根であり、本発明が目的とする活性物質 α 、および活性物質 β を含む天然物、および天然物加工品として好ましく使用することができる。

10 このような大麦、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物から、本発明が目的とするムスカリーンM₃受容体を介した消化管運動促進作用を有する組成物を取得する方法としては、常法による各種抽出・分離操作により、当該物質を含む組成物を得ることができる。より具体的には、分配平衡による分離、例えば、固液抽出（水系抽出、有機溶媒系抽出など）、超臨界ガス抽出、吸着（活性炭など）；速度差に基づく分離、例えば、濾過、透析、膜分離（限外濾過、R.O.、機能性膜）、液15 体クロマトグラフィー（イオン交換など）；選択的沈殿の形成による分離、例えば、結晶化、有機溶媒による沈殿など；抽出・分離工程を適宜組み合わせて行うことができる。

20 なお、必要であれば、濃縮、濾過、乾燥などを適宜行い、濃縮エキス、粉体、乾燥、結晶品などの各種形態として目的とする消化管運動促進組成物を得ることもできる。かかる組成物の純度は、特に限定されず、目的とする飲食物、飲食物添加剤、医薬品、動物用飼料、消化管運動促進剤の特性に応じて適宜決定でき、粗精製物でもよく、あるいは高純度の精製物でもよい。

25 また、麦芽根および／または根芽から、本発明が目的とするムスカリーンM₃受容体を介した消化管運動促進作用を有する組成物を取得する方法としては、例えば、以下のようにして行うことができる。すなわち、麦芽根および／または根芽が殻などの夾雑物を含む場合は、篩いなどの前処理方法によって夾雑物を取り除く。麦芽根および／または根芽そのものを、直接飲食可能な組成物の形態に加工する場合は、一般的に行われる粉碎法によって粉碎して微粉末化したり、ペース

ト化したり、ペレット化すればよい。また、麦芽根および／または根芽から、抽出・分離した組成物を得る場合は、水や溶媒によって抽出することにより目的とする消化管運動促進組成物を得る。

次いで、必要であれば、当該抽出液を、合成吸着剤、活性炭、イオン交換樹脂などの各種吸着剤、分離膜などの分離精製法を用いて適宜処理し、さらに純度良く消化管運動促進組成物を得ることができる。また、濃縮、濾過、乾燥などを行い、濃縮エキス、粉体、乾燥、結晶品などの各種形態の、消化管運動促進組成物を得ることもできる。あるいは、糖類と混和して、シロップ状の消化管運動促進組成物を得てもよい。また、塩としての形態で得ることもでき、そのような塩としては、塩酸塩など、特に限定されるものではない。

なお、本発明にあっては、麦芽根および／または根芽を、直接、他の原料と混和し、水や溶媒によって抽出・分離し、本発明が目的とする消化管運動促進成分を含む飲料として製造することもできる。この場合の麦芽根および／または根芽の使用量は、直接飲用する飲料の場合、麦芽根および／または根芽の原料配合量として、最終製品当たり $20\text{ mg} \sim 200\text{ g/L}$ 、当該活性物質の含量として、最終製品当たり $0.01\text{ mg} \sim 100\text{ mg/L}$ 程度であることが好ましい。

以上のようにして得られた本発明が目的とするムスカリンM₃受容体に作用する消化管運動促進成分は、そのまま単独で消化管運動促進性の添加物として飲食物に添加混合してもよく、または必要であれば飲食用に適する担体と共に、乾燥品、液状品、粉末品等の飲食物添加剤として供してもよい。さらには、アルコール飲料やミネラルウォーターに予め、または用時添加するための易溶性製剤として使用することもできる。

また、本発明が目的とするムスカリンM₃受容体に作用する消化管運動促進成分を含有する天然物、あるいは天然加工品も、消化管運動促進性の添加物として飲食物に添加混合してもよく、または必要であれば飲食用に適する担体と共に、乾燥品、液状品、粉末品等の飲食物添加剤として供してもよい。さらには、アルコール飲料やミネラルウォーターに予めまたは用時添加するための易溶性製剤としてもよい。

本発明が提供する飲食物添加剤の態様には、種々の用途の飲食物用製品、例えば、調味料、調味液、香料、ふりかけ、食用油、出し汁、栄養強化剤の一成分として消化管運動促進成分を含有する消化管運動促進性の飲食物添加剤も含まれる。

5 本発明において有効成分である、消化管運動促進成分、組成物もしくはそれらの混合物は、食品原料とともに、一般の製造法により飲食物、健康食品、特別用途食品として加工製造することができる。

飲食物の種類、形態は特に限定されず、例えば固形、あるいは液状の食品ないしは嗜好品、例えばパン、麺類、ごはん、菓子類（ビスケット、ケーキ、キャンディー、チョコレート、和菓子、グミ、チュウインガム）、豆腐およびその加工品などの農産食品、みりん、食酢、醤油、味噌、ドレッシングなどの調味料、ヨーグルト、ハム、ペーコン、ソーセージ、マヨネーズなどの畜農食品、かまぼこやハンバーグ等の水産練り製品、果汁飲料、清涼飲料、スポーツ飲料、コーヒー飲料、茶飲料、炭酸飲料などの飲料、さらにはベビーミルク、コーヒー用ミルク等の粉乳や乳製品等の形態にすることができる。

15 健康食品の種類、形態も特に限定されず、例えば、錠剤、カプセル品、固形、あるいは液状などが挙げられる。

特別用途食品としては、病弱者用食品、妊産婦／授乳婦用粉乳、乳児用調整粉乳、高齢者用食品、保健機能食品（栄養機能食品、特定保健用食品）を挙げることができる。

また、本発明における有効成分は、ビール、発泡酒、低アルコール麦芽発酵飲料等の麦芽発酵飲料、ワイン、清酒、薬用酒などの醸造酒に添加して消化管運動促進作用／ドリンクアビリティー促進作用が増強されたアルコール飲料として、また、ウィスキー、ブランデー、焼酎などの蒸溜酒に添加して消化管運動促進作用／ドリンクアビリティー促進作用が付与された食前・食中酒として摂取できる形態にあるアルコール飲料として加工製造されてもよい。

本発明はさらに、本発明が提供する活性物質を含有する消化管運動促進剤を提供するものもある。このような促進剤は、慣用の製剤技術を用いて、たとえば、

カプセル剤、錠剤、粉末剤、顆粒剤、ドリンク剤、シロップ剤、注射剤、点滴剤等の形態に製剤化することができる。これらは、主として食前、食中に消化管運動促進を高める目的で用いることができ、あるいは嗜好品などとして適宜摂取することも可能である。さらに、健常者の消化管運動促進を高める目的以外にも、
5 術後、加齢、疲労、疾病、傷害等における消化管運動能力の低下を回復させる目的で、あるいは、抗ガン剤の投与による食欲不振などを改善する目的で用いることもできる。

本発明が目的とする消化管運動促進活性成分は、ムスカリーンM₃受容体に作用する物質である。このムスカリーンM₃受容体は多様な生理作用に関与していることから、本物質が、消化管運動促進作用のみならず、排尿促進作用、胃酸分泌促進作用、および食欲増進作用を有することは明らかである。
10

また、本発明が目的とする消化管運動促進成分には、ドリンカビリティー促進作用があることが判明した。

これらの種々の作用／効能を活用し、消化管運動促進、排尿促進、胃酸分泌促進、食欲増進および／またはドリンカビリティー促進成分として、ピールから単離された式(I)～(III)で示された物質をそのまま用いる代わりに、ピール中より単離したムスカリーンM₃受容体に作用する物質を含む天然物（例えば、大麦など）、および天然物加工品（例えば、酵母発酵産物、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物など）を用いることができる。特に麦芽根には、式(I)～(II)
15 20 I I)で示される物質を多く含むことから、麦芽根や麦芽根の加工品を好適に用いることができる。

またそれら天然物および天然物加工品を抽出・分離した組成物の状態で、目的とする飲食物、飲食物添加剤、医薬品、動物用飼料および消化管運動促進剤の特性に応じて好ましい態様として用いることができる。

25

本発明が提供するムスカリーンM₃受容体に作用する消化管運動促進成分は、最終的に飲食物に添加されてヒトまたは他の動物が摂取する場合、摂取された有効成分が消化管運動を促進する量で提供されればよく、例えば、活性物質に換算し

て、食事ごとに数mg程度摂取できる形態で提供されればよい。したがって、飲食物、飲食物添加剤、消化管運動促進成分または動物用飼料の各使用形態により異なるが、それぞれ、好ましくは1日あたり0.01mg～100mg、特に好ましくは1日あたり0.05mg～50mg、さらに好ましくは、0.1mg～

5 10mg程度摂取されるよう提供されればよい。

なお、本発明が提供する消化管運動促進物質は、マウスを用いた急性毒性試験において、50mg/kgの経口投与でも死亡例はなく、一般症状および体重等に異常は認められず、非常に弱毒または無害の物質であることが判明した。

以上のことより、本発明によれば、消化管運動の低下によって生じる食欲不振、
10 消化不良、食後の腹部膨満感、胃のもたれ、恶心、嘔吐、上腹部痛などの消化器
症状に悩む対象に対し、消化管運動促進効果およびドリンクアビリティー促進効果
によって、食欲およびドリンクアビリティーを増進することができる。

実施例

15 以下に、本発明を実験例および実施例により、さらに詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例等により限定されるものではない。

ピール乾燥物は、ムスカリーンM₃受容体を刺激することによって消化管運動を促進することが明らかとなっている。したがって、ムスカリーンM₃受容体への結合活性を指標として、ピール中の消化管運動促進物質の探索を行った。

20 参考例1：ムスカリーンM₃受容体結合性試験

ムスカリーンM₃受容体結合性試験法は、次の通りである。

ヒトのムスカリーンM₃受容体を発現させた組換えチャイニーズハムスター卵巣細胞株の膜標品の懸濁液に、検体（ピール乾燥物およびその分画物）と、リガンド：0.2nMの[³H]4-DAMP（ジフェニルアセトキシ-N-メチルピペリジンメチオダイド）を添加し、22℃で60分間インキュベートした。反応液をガラス纖維フィルター（GF/B：Packard社製）にて吸引濾過して反応を停止させ、氷冷した緩衝液で数回洗浄した。フィルターにシンチレーションカクテル（Microscint-0：Packard社製）を加え、フィルター上に残

存する放射活性を液体シンチレーションカウンター(Top count: Packard 社製)で計測した。 $[^3\text{H}]$ 4-DAMPの特異的結合量は、 $[^3\text{H}]$ 4-DAMPの全結合量から1 μMアトロピン存在下の非特異的結合量を差し引くことにより算出した。

5 ビール乾燥物の $[^3\text{H}]$ 4-DAMP結合に対する阻害曲線を、第1図に示した。図中に示した結果からも判明するように、ビール乾燥物は、0.1 mg/mLから $[^3\text{H}]$ 4-DAMP結合を抑制し、その結合の50%を阻害する濃度であるIC₅₀値は、約2 mg/mLであった。

10 実施例1：

参考例1に示すムスカリーンM₃受容体結合性試験による結合活性を指標として、リガンドの受容体結合を阻害する画分を分離・精製し、ビール中の消化管運動促進物質の精製を試みた。第2図に、分離・精製フローを示した。

すなわち、10 Lのビール(麦芽100%、アルコール濃度5%、乾燥重量3. 15 XAD-2)を凍結乾燥し、得られた乾燥物に純水を加え、合成吸着剤(吸着剤：XAD-2)クロマトグラフィーに供した。ムスカリーンM₃受容体結合活性を有するメタノール溶出物から、メタノールを蒸発させ、得られた乾燥物に純水を加え、弱酸性・陽イオン交換クロマトグラフィー(樹脂：CMセファデックスC-25)に供した。次に、結合活性の得られたメタノール-塩酸溶出物から、メタノールおよび塩酸を蒸発させ、得られた乾燥物に純水を加え、ゲル濾過クロマトグラフィー(樹脂：セファデックスG-15)に供した。さらに、結合活性の得られた活性画分(活性フラクションNo. 1: Kd = 3~5; 活性フラクションNo. 2: Kd = 7~9)を、それぞれ分取用ODS-HPLCに付した。その結果、活性フラクションNo. 1からは、4.2 mgの活性物質αが、また、活性フラクションNo. 2からは、12.6 mgの活性物質βが得られた。

20 25 上記で得られた2種の活性物質(活性物質αおよび活性物質β)を、HPLCにより分析した。活性物質αのHPLC分析チャートを、第3図として示す。図から明らかな様に、活性物質αは、HPLC上の単一ピークに精製できてお

り、また、リテンションタイムは、約33～34分にあることが判明した。

なお、活性物質 β も、同様の分析条件で、HPLC上の単一ピークに精製できたことを確認し、また、リテンションタイムは活性物質 α とほぼ同一であった。

また、活性物質 α および β は、異なる条件下でのHPLC分析でも単一ピーク
5 を示すことを確認された。

かくして得られたHPLC上単一ピークに精製された活性物質 α および活性物質 β について、それぞれの用量をふって、参考例1に記載したムスカリーンM₃受容体結合性試験を行い、用量－作用曲線を求めた。

その結果を、第4図（活性物質 α ）および第5図（活性物質 β ）に示した。図
10 中に示した結果から明らかなように、活性物質 α および活性物質 β には、用量依存性が確認され、そのIC₅₀はそれぞれ、活性物質 α では 0.65×10^{-6} g/mL、活性物質 β では 2.30×10^{-6} g/mLであった。

なお、4-DAMPのIC₅₀は、 0.62×10^{-9} g/mLであった。

15 以上に記載したように、ピール中から、2種の活性物質（活性物質 α および活性物質 β ）を単離することができ、両者共にHPLC上の単一ピークであることを確認し、また、ムスカリーンM₃受容体への結合作用が、用量依存性であることが確認された。

20 実施例2：

上記で単離・精製した2種の活性物質（活性物質 α および活性物質 β ）について、その紫外吸収スペクトル、質量分析スペクトル、および核磁気共鳴スペクトルデータによる解析を行った。

1. 紫外線吸収スペクトル

25 まず、活性物質 α および活性物質 β の紫外吸収スペクトル（UVスペクトル）を測定した結果を第6図に示した。

両物質のUVスペクトルは非常に類似しており、230 nm付近を中心とする一個の吸収ピーク、300 nm前後にややプロードな吸収ピークが認められ、両

物質に特有の紫外吸収スペクトルパターンを示した。

2. 質量分析 (FAB-MASS) スペクトル

次に、活性物質 α および活性物質 β について、その質量分析 (FAB-MASS) を行った。

活性物質 α および β を3-ニトロベンジルアルコールに溶解して、質量分析を行った結果を第7図（活性物質 α ）および第8図（活性物質 β ）として示した。その結果、両活性物質とも、分子イオンとして、質量／電荷 (m/z) が、551 ($M+H$)⁺ となり、分子量は550を有するものであることが判明した。

10

3. 核磁気共鳴 ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$) スペクトル

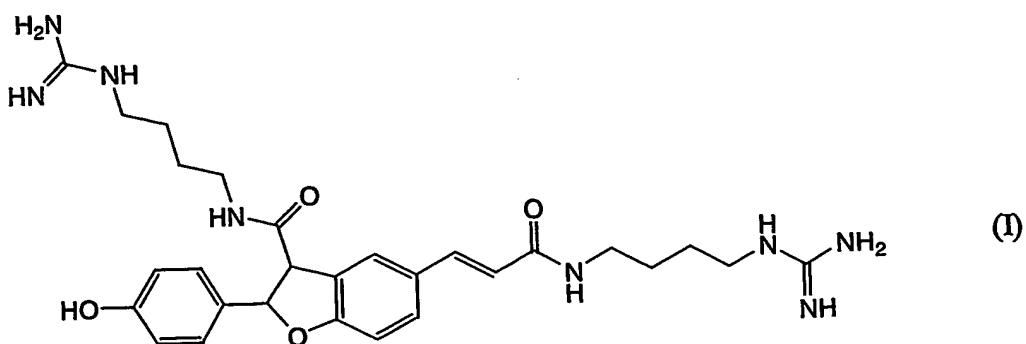
さらに、活性物質 α および活性物質 β について、その核磁気共鳴 ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$) スペクトル解析を行った。溶媒としてDMSO-D₆を用い、測定は、Bruker Biospin社 DMX-750 ($^1\text{H-NMR}$) または DMX-500 ($^{13}\text{C-NMR}$) で行った。

活性物質 α および活性物質 β の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル解析データをそれぞれ第9図（活性物質 α ）および第10図（活性物質 β ）に、また $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトル解析データをそれぞれ第11図（活性物質 α ）および第12図（活性物質 β ）に示した。

活性物質 α および活性物質 β の $^1\text{H-NMR}$ および $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルを比較した結果、共にシグナルの数が近く、ケミカルシフトやシグナルの分裂パターンが酷似しており、両者はよく似た構造の化合物であることが理解される。

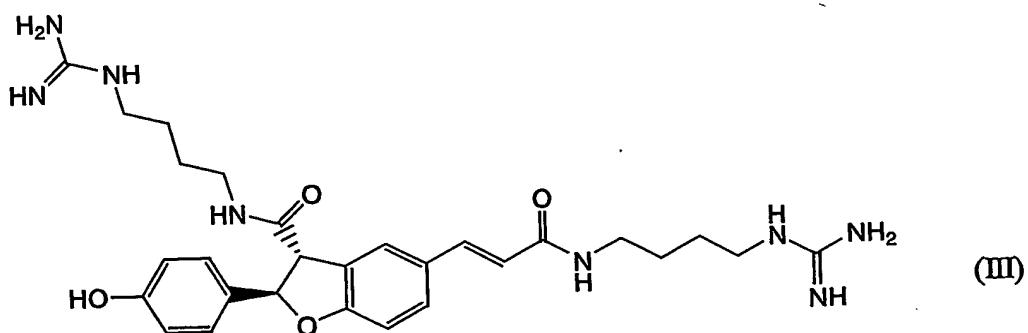
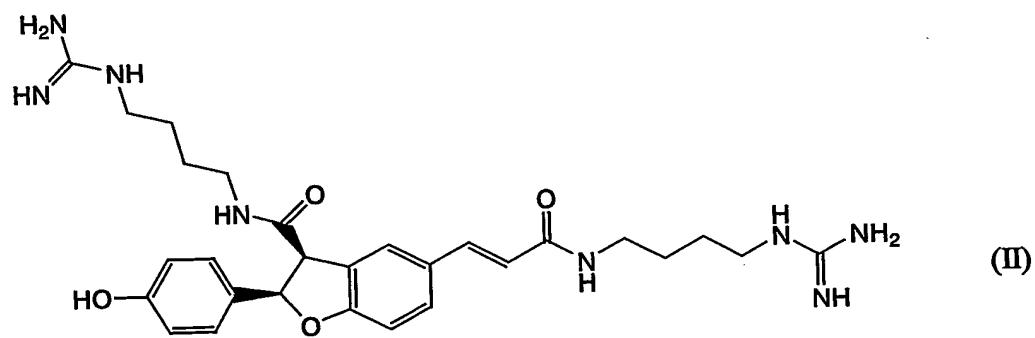
4. 構造の決定

以上のように、単離した活性物質 α および活性物質 β について、紫外吸収、質量分析、および核磁気共鳴スペクトルデータによる解析の結果、両化合物は、その化学構造として、次式 (I) :



で示される化合物を基本とし、その立体異性体であることが判明した。

それぞれの立体構造は、下記の式（II）（活性物質 α ）および式（III）（活性物質 β ）で示される化学構造式を有するものであることが判明した。
5



なお、個々の立体異性体化合物の絶対配置については、CD曲線を解析して決定した。活性物質 α および活性物質 β のCDスペクトルの測定は、測定機器として JASCO J-725 Spectropolarimeter を用い、溶媒はメタノールとした。
10 本発明の活性物質 α は第13図に示したCDスペクトルを示す絶対配置を、また活性物質 β は第14図に示したCDスペクトルを示す絶対配置を持つことが判

明した。

実施例3:

次に、単離・特定ができた活性物質 α および活性物質 β の両者について、マウスにおける消化管運動促進作用を、胃排出能促進活性を指標として評価した。

1. 方法

18時間絶食下のddY系マウス（1群10匹）に、蒸留水、活性物質 α および活性物質 β を、胃ゾンデを用いて経口投与し、60分後に試験食（フェノールレッドを0.05%含む1.5%メチルセルロース溶液）を0.2mL/匹の割合で同様に経口投与した。試験食投与の15分後に、マウスを頸椎脱臼によって屠殺し、胃を摘出した。胃を内容物とともに10mLの0.1N-NaOHでホモゲナイズし、室温で1時間放置した後、上清1mLに0.1mLの20%トリクロロ酢酸を加えて除蛋白を行った。遠心分離後、上清0.5mLに0.5mLの0.5N-NaOHを加えて発色させ、560nmでの吸光度より胃内に残存するフェノールレッド量を求めた。胃排出率は以下の式に従って算出した。

$$\text{胃排出率 (\%)} = (A - B) / A \times 100$$

A : 試験食投与直後の胃内フェノールレッド量

B : 試験食投与15分後の胃内フェノールレッド量

2. 結果

測定結果は、平均値と標準誤差で表し、群間の有意差検定にはStudentのt-検定を用いた。その結果を第15図に示した。

図中の結果から明らかなように、活性物質 α （0.1および0.3mg/kg）および活性物質 β （0.3および1.0mg/kg）は、用量依存的かつ有意に（ $P < 0.05$ ）胃排出を促進していた。したがって、両物質には強い消化管運動促進作用を有することが確認できた。

なお、ムスカリリンM₃受容体は多様な生理作用に関与していることから、両物質は、消化管運動促進作用のみならず、排尿促進作用、胃酸分泌促進作用、および食欲増進作用を有することが判明した。

実施例4：

次に、ビールから単離した両活性物質（活性物質 α および活性物質 β ）について、ビール以外の素材から、天然型の活性物質を含む組成物として得るために、実施例1の精製法およびHPLC分析法を用い、本活性物質を多く含む天然の素

5 材を検討した。

各種素材のメタノール抽出物を凍結乾燥した後に純水に溶解し、実施例1に準じて、弱酸性・陽イオン交換クロマトグラフィーおよびゲルfiltrationクロマトグラフィーを行い、得られたフラクション（ $Kd = 3 \sim 5$ および $Kd = 7 \sim 9$ ）を、実施例1と同様の条件でHPLC分析を行い、リテンションタイムとピーク面積から、活性物質含有の有無およびその含有濃度を算出した。

10 その結果、発芽した大麦の分画物の一つである麦芽根に、活性物質が含有されていることが確認された。

第16図に、麦芽根抽出物から得られたフラクションのうち、 $Kd = 7 \sim 9$ の画分のHPLC分析チャートを示した。

15 図中の矢印で示す活性物質のピークがリテンションタイム33～34分に、他のピークと重ならないピークとして確認されていた。

またこの $Kd = 7 \sim 9$ の画分に、実施例1で単離された活性物質 β を加えて、HPLC分析を行った結果、ピークが一致することが判明した。

20 したがって、麦芽根には活性物質 β が含まれることが明らかとなった。また、同様に $Kd = 3 \sim 5$ の画分を分析し、麦芽根に、活性物質 α が含まれることが判明した。さらに、HPLCによる精製を行って活性物質 α および β を単離し、それらの紫外線吸収スペクトル、質量分析スペクトル、および核磁気共鳴スペクトルデータによる解析を行い、それぞれ実施例2のスペクトルデータと一致することを確認した。

25 さらに、ピーク面積から、活性物質の含有濃度を算出したところ、活性物質 α および活性物質 β が、高濃度（それぞれ、麦芽根1g当たり、約0.05mgおよび約0.5mg）含有されていることが判明した。

麦芽根は、発芽した大麦の分画物の一つであることから、麦芽根以外の、発芽

した大麦の分画物、例えば穀皮部、でんぶん層（胚乳）、果皮および種皮、葉芽、幼芽、アロイロン層画分、根芽などにも本発明が目的とする活性物質が含まれることは明らかであり、また、大麦、発芽した大麦、にも同様に含まれることも明らかである。

5 以上の検討から、麦芽根およびその関連素材（発芽した大麦の分画物、大麦、発芽した大麦）からの抽出・分離により、天然型の活性物質（活性物質 α および活性物質 β ）を含む各種組成物／添加剤を得ることができることが判明した。

実施例5：

10 さらに、当該活性物質を含有する麦芽根抽出物の消化管運動促進作用を明らかにするために、マグヌス法を用いてモルモットの回腸縦走筋の収縮に及ぼす影響について検討した。

すなわち、Hartley 系雄性モルモットより摘出した回腸縦走筋をトランスデューサーからつり下げる Krebs-Ringer 液に浸し、溶液を 35℃ に保温して、9
15 5% O₂ / 5% CO₂ ガスにて飽和・安定化させた。縦走筋の運動をレコーダー上に描記させ、自発性運動が一定になったところで、比較品である麦芽根抽出・乾燥物 [IC₅₀ = 0. 20 × 10⁻³ g / mL、IC₅₀ ; 陽性対象物質のM₃受容体結合に対する 50% 競合阻害濃度 (参考例 1 に準ずる)]、対照品であるピール乾燥物 (IC₅₀ = 2. 00 × 10⁻³ g / mL、参考例 1 に同じ)、および陽性対照物であるカルバコールを添加し、縦走筋の収縮反応を測定した。

20 結果を第 17 図に示した。その結果、図から明らかな通り、麦芽根抽出・乾燥物は、0. 005 ~ 0. 5 mg / mL で用量依存的にモルモットの回腸縦走筋を収縮させた。また、カルバコール (5 × 10⁻³ M) による筋収縮度を 100 として、対照品であるピール乾燥物と比較したところ、麦芽根抽出・乾燥物の作用の
25 強さはピール乾燥物の約 20 倍に相当した。

したがって、当該活性物質を含有する麦芽根抽出物は、強い消化管運動促進作用を有することが確認できた。

実施例 6：ヒトにおける官能試験

本発明が目的とする活性物質（活性物質 α および活性物質 β ）を含む天然物または天然物加工品から抽出・分離操作により得た消化管運動促進性の組成物を含む飲食物の一例として、飲料（アルコール飲料）を調製し、ヒトにおける消化管運動促進作用および排尿促進作用を評価した。

5 1. アルコール飲料の調製

実施例4において、麦芽根には天然型の活性物質（活性物質 α および活性物質 β ）が含有されている。したがって、麦芽根の水溶性画分として、麦芽根を水抽出した組成物を添加して、アルコール飲料を調製した。なお、麦芽根を水抽出した組成物は、麦芽根約150gの粉碎物を用いて、純水にて抽出した後、濾過を行い、乾燥物重量で約30g [収率：約20% (w/w)] 得られた組成物（活性物質 α の含量で約22.5mg、活性物質 β の含量で約7.5mgに相当する量が含まれる）を用いた。

850mLの59%アルコール、100mLの5倍濃縮タイプの透明・梅果汁、
15 200gの砂糖、20gのクエン酸、6mLの香料、30gの上記組成物（麦芽根を水抽出した組成物）を加え、純水にて最終10Lに調整した調合液を、加熱殺菌、冷却し、炭酸ガスを圧入した後、250mL入りの缶に充填、密栓し、アルコール分5%の梅風味のアルコール飲料である試作品1（当該活性物質の含量として最終製品当たり、活性物質 α および β を、それぞれ、約2.25mg/Lおよび約7.5mg/L含む）を得た。

なお、対照品1として、上記組成物を加えていない、アルコール飲料を、同様の方法で調製した。

20 2. 官能試験

ヒトにおける消化管運動促進作用および排尿促進作用の評価は、以下の様に行なった。

すなわち、健常人男性20名を10名ずつに分け、試作品1、対照品1の摂取グループに分け、二週間の間隔をあけて、クロスさせて二重盲検法にてテストした。

試作品1および対照品1は、15分当たり2.4mL/kgで2時間摂取させ、また、ポテトチップスを15分当たり0.2g/kgで2時間摂取させた。

消化管運動促進性の評価は、腹部膨満感を指標とし、60分および120分後の評点を、被験者が記載する方法で行った。

5 3. 評価基準

1) 腹部膨満感の評価は、膨満を感じる順に、

感じる： 3点、

やや感じる： 2点、

あまり感じない： 1点

10 の点数による3段階評価とした。

2) 排尿促進作用の評価は、試験前に排尿を済ませておき、その後30分毎にトイレに行き、排出される尿量を測定した。

4. 結果

15 第1表に、腹部膨満感に関する評価結果を示す。

第1表

	腹部膨満感に関する3段階評価の回答者数			
	試作品1		対照品1	
被験者20名の回答	60分	120分	60分	120分
「感じる」(3点)との回答者	0人	3人	2人	15人
「やや感じる」(2点)との回答者	3人	16人	16人	5人
「あまり感じない」(1点)との回答者	17人	1人	2人	0人
平均点	1.2点	2.1点	2.0点	2.8点

上記の結果からも明らかなように、試作品1は、60分後において、膨満感をあまり感じないという評価が多く、また、120分後においても、膨満感を感じるという評価は少なく、膨満感をやや感じるという評価が多かった。

一方対照品1は、60分後において、膨満感をやや感じるという評価が多く、また、120分後においては、膨満感を感じるという評価が多かった。

以上の結果から判断すると、本発明の活性物質を含む組成物を添加した飲料である試作品1には、腹部膨満感を感じる度合いを抑える効果があり、消化管運動促進性の作用があることが示された。

また、第18図に、30, 60, 90, 120分までに排出された尿量の測定
5 結果（平均値）を示した。

その結果、試作品1は、対照品1に比較して各時間において排出される尿量が相対的に多くなっていることが明らかになった。

したがって、ムスカリンM₃受容体は多様な生理作用に関与していることから推定した通り、本物質には消化管運動促進作用のみならず、排尿促進作用を有す
10 ることが明らかとなった。

実施例7：

本発明の活性物質（活性物質αおよび活性物質β）には、消化管運動促進作用および排尿促進作用が確認できたことから、本活性物質のドリンクアビリティー促
15 進作用を、ラットを用いて検討した。

1. 方法：

すなわち、まず、実施例6と同様の組成物（麦芽根を水抽出した組成物）を、
実施例6と同じ最終濃度（麦芽根の水抽出物：3 g/L）になるように3%の砂
糖水に添加し、ノンアルコール飲料である試作2（当該活性物質の含量として最
20 終製品当たり、活性物質αおよびβを、それぞれ約2.25 mg/Lおよび約7.
5 mg/L含む）を調製した。また活性物質を添加しない3%の砂糖水であるノ
ンアルコール飲料、対照品2を調製した。

次いで、ラット（1群3匹）に、試作品2および対照品2を、それぞれ自由摂取させ、摂水量を5日間わたって測定した。

25 2. 結果

第19図に、試作品2および対照品2についての、各期間（1～2日目、2～3日目、3～4日目、4～5日目）における、ラット一匹あたりの摂水量の平均値を示した。

図中に示した結果からも判明するように、試作品2は、対照品2に比較して、評価した各期間の全てにおいて、摂水量が相対的に多くなっていることが理解される。

以上の結果から判断すると、本発明が提供する活性物質には、消化管運動促進

5 作用に加え、ドリンクアビリティー促進作用があることが理解される。ドリンクアビリティー促進作用は、飲料を大量に飲んでも飲み飽きないというだけでなく、おいしさにも影響を及ぼすことから、飲料として重要な特性である。本発明における活性物質を添加した飲料は、その様な特性を付与されたものであることが判明した。

10

実施例8：ヒトにおける飲食物摂取動態比較

当該活性物質を含む組成物（麦芽根を水抽出した組成物）を添加した醸造酒の一種であるピールを試作し、飲食物摂取動態を比較した。

ピールは、麦芽、ホップ、当該活性物質を含む組成物（麦芽根を水抽出した組成物）、水を原料として、常法に従い、100Lの仕込み、発酵、濾過、充填を行って製造した。すなわち、粉碎した麦芽15kgを仕込み釜で糖化し、副原料として、上記組成物(0.4kg；麦芽根2kg相当)を添加した後、濾過槽で濾過を行った。次に、ホップを添加して煮沸釜で煮沸した後、生じた蛋白質などの澱をワールプールと呼ばれる沈殿槽で除去した。清澄化した溶液に、酵母を加えて、発酵させた後、-1℃に冷却して貯酒を行った。さらに、発酵液を濾過して酵母を除去し、アルコール4%程度の醸造酒（当該活性物質の含量として最終製品当たり、活性物質 α および β を、それぞれ、約3.0mg/Lおよび約10.0mg/L含む）を製造した（試作品3）。また、コントロールとして、麦芽根を添加しないピールも同様に製造した（対照品3）。

25 飲食物摂取動態比較は、クロスオーバー・トライアル法に加え、二重盲検法も採用して実施した。すなわち、20名の被験者を2群に分け、上記の麦芽根添加および無添加ピール；自由摂取、食物；自由摂取、飲食時間；2時間、の条件にて比較検討し、飲用量の変化、および2時間後に残った食事量を評価した。さら

に詳しくは、食物として、0分に、オードブル盛合せ、豆腐、魚の刺身を提供、30分に、肉のステーキ、60分に、焼きナス、揚げ豆腐を提供、90分に、ライス、スープ、フルーツを提供した。また、飲用量は、30分毎に120分まで測定した。

5 飲用量の平均値を第20図に示す。その結果、当該活性物質を含む組成物（麦芽根を水抽出した組成物）を添加した醸造酒の一種であるビール（試作品3）は、当該活性物質を含む組成物・無添加のビール（対照品3）に較べ、飲用量が多くなる、すなわち、ドリンカビリティーが増大する傾向が見られた。

2時間後に残った食事の評価結果を、第2表に示した。

10 第2表：

	食事被験者20名の平均残量	
	試作品3・飲用時	対照品3・飲用時
ライス	21g	145g
スープ	5ml	120ml
フルーツ	3g	35g

その結果、試作品3を飲用した場合、対照品3を飲用した場合に較べ、食事を残す量が明らかに少なく、食欲増進作用が認められた。

これらのことから、当該活性物質を含む組成物を含有する飲料は、ヒトにおいて、ドリンカビリティー促進、および食欲増進の効果があることが確認できた。

以下に本発明の活性物質を含有する飲料、医薬品原体についての実施例を記載する。

実施例9：清涼飲料の製造

20 果汁、クエン酸、砂糖、香料、当該活性物質を含む組成物（麦芽根を水抽出した組成物）を原料として、常法に従い、調合し最終1,000mLに調整した後、殺菌、充填を行って、清涼飲料の一種として、果汁系のニアウォーターを製造した。すなわち、グラニュー糖を40g測りとり50℃の純水で溶解させ、ストレート果汁換算で1%となる様に各種の濃縮混濁果汁〔オレンジ果汁（濃縮倍率5

倍)、リンゴ果汁（濃縮倍率4倍）]を加え、さらに0.15gのクエン酸、3gの上記組成物、2mLの香料、0.25gのL-アスコルビン酸を加えて、純水にて総量を最終1,000mLに調整した後、100℃、20分間の加熱殺菌処理を行い、各100mLを透明瓶（110mL容量）に充填、密栓し、各種果汁入りの果汁系ニアウオーター（果汁：1%；当該活性物質の含量として、最終製品当たり、活性物質 α および β をそれぞれ、約2.25mg/Lおよび約7.5mg/L含む）を製造した。

実施例10：茶飲料の製造

緑茶葉の抽出液0.3L、重曹0.3gに、当該活性物質を含む組成物（麦芽根を水抽出した組成物）を調合し、総量を純水にて1Lに調整した。次に、85℃に昇温後、190g缶に充填し、レトルト殺菌（125℃、10分間）を行って、缶入りの茶飲料（当該活性物質の含量として、最終製品当たり、活性物質 α および β をそれぞれ、約0.25mg/Lおよび約0.75mg/L含む）を製造した。

実施例11：健康食品

麦芽根約1.5kgを用いて、純水にて抽出を行った後、陽イオン交換クロマトグラフィーおよびODS-HPLCにて精製し、約3g[収率：約0.2%（w/w）]の粗精製物（活性物質 α の含量で約250mg、活性物質 β の含量で約750mg含まれる）を得た。

次に、上記粗精製物：50mg、乳糖：120mg、結晶セルロース：30mgを配合して、一粒200mgの内容物からなるカプセル剤の健康食品（当該活性物質の含量として、最終製品当たり、活性物質 α および β を、それぞれ、約4.17mg/カプセルおよび約12.5mg/カプセルを含む）を製造した。

実施例12：医薬品原体

麦芽根約150kgを用いて、純水にて抽出を行った後、陽イオン交換クロマ

トグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィーおよびODS-HPLCにて精製して、乾固させた後、蒸留水に溶解し、殺菌、濾過、精密濾過を行って、医薬品原体として、約4.5gの純度約99%（HPLC分析法による）の活性物質 β の精製物を得た。

5

産業上の利用可能性

以上記載のように、本発明により、ビールから単離したムスカリーンM₃受容体に作用する消化管運動促進物質および／またはドリンカピリティー促進物質、ならびに、当該物質を含む天然物および天然物加工品より得た当該物質を含む組成物および精製物を飲食物用の添加剤として活用し、そのような添加剤を含む消化管運動促進性の飲食物を提供することができる。

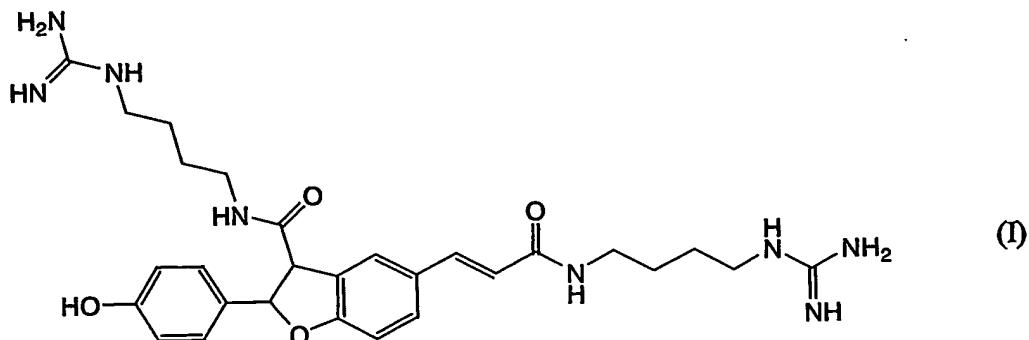
特に本発明のムスカリーンM₃受容体に作用する消化管運動促進物質は、消化管運動の低下によって生じる食欲不振、消化不良、食後の腹部膨満感、胃のもたれ、恶心、嘔吐、上腹部痛などの消化器症状に悩む対象に対し、有効に消化管運動を促進するものであり、また、ドリンカピリティー促進効果によって、食欲およびドリンカピリティーを増進することができる利点を有する。

さらに、これらの消化管運動促進物質および／またはドリンカピリティー促進物質を含む組成物を用いて、各種飲料、機能性食品を提供することができ、その有用性は多大なものである。

20

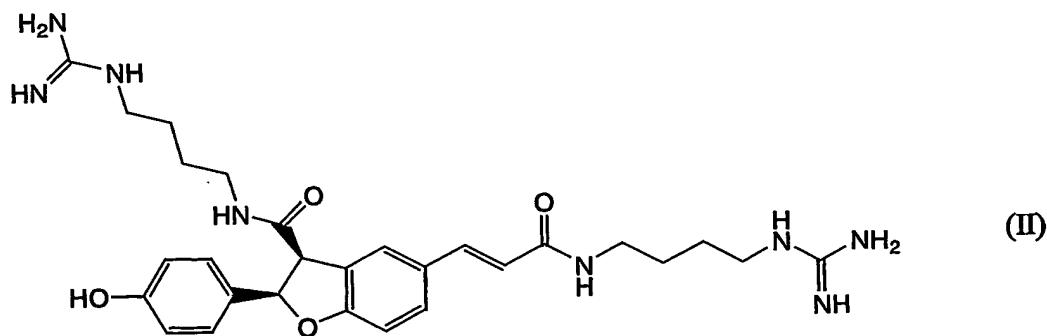
請求の範囲

1. 次式 (I) :



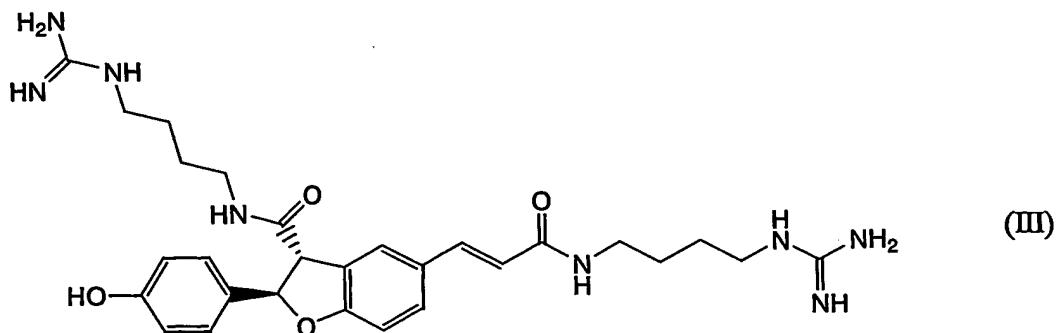
5 で示される化合物。

2. 次式 (II) :



で示される化合物。

3. 次式 (III) :



10 で示される化合物。

4. 酵母発酵産物、大麦、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物から単離された

請求の範囲第 1、2 または 3 項に記載の化合物。

5. 発芽した大麦の分画物が、麦芽根である請求の範囲第4項に記載の化合物。
6. ムスカリンM₃受容体に作用する請求の範囲第1項ないし第5項のいずれかに記載の化合物。
7. ムスカリンM₃受容体を介した作用が、消化管運動促進、胃酸分泌促進、排尿促進、食欲増進作用およびドリンクアビリティー促進である請求の範囲第6項に記載の化合物。
- 5 8. 請求の範囲第1項ないし第7項のいずれかに記載の化合物を含む天然物または天然物加工品を含有することを特徴とする飲食物、飲食物添加剤、医薬品または動物用飼料。
- 10 9. 請求の範囲第1項ないし第7項のいずれかに記載の化合物を含む天然物または天然物加工品が、酵母発酵産物、大麦、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物である請求の範囲第8項に記載の飲食物、飲食物添加剤、医薬品または動物用飼料。
- 15 10. 請求の範囲第1項ないし第7項のいずれかに記載の化合物を含む天然物または天然物加工品が、麦芽根または麦芽根の加工品である請求の範囲第8項に記載の飲食物、飲食物添加剤、医薬品または動物用飼料。
11. 請求の範囲第1項ないし第7項のいずれかに記載の化合物、当該化合物を含む天然物または天然物加工品を含有することを特徴とするムスカリンM₃受容体を介した促進作用を有する組成物。
- 20 12. ムスカリンM₃受容体を介した促進作用が、消化管運動促進、胃酸分泌促進、排尿促進、食欲増進作用およびドリンクアビリティー促進である請求の範囲第11項に記載の組成物。
13. 消化管運動促進剤および／またはドリンクアビリティー促進剤である請求の範囲第11項に記載の組成物。
- 25 14. 請求の範囲第1項ないし第7項のいずれかに記載の化合物を含む天然物または天然物加工品が、酵母発酵産物、大麦、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物である請求の範囲第11項ないし第13項のいずれかに記載の組成物。
15. 請求の範囲第1項ないし第7項のいずれかに記載の化合物を含む天然物ま

たは天然物加工品が、麦芽根または麦芽根の加工品である請求の範囲第11項ないし第13項のいずれかに記載の組成物。

16. 請求の範囲第1項ないし第7項のいずれかに記載の化合物、化合物を含有する天然物、天然物加工品または組成物を添加した飲食物。

5 17. アルコール飲料またはノンアルコール飲料である請求の範囲第16項に記載の飲食物。

18. 麦芽発酵飲料である請求の範囲第16項に記載の飲食物。

19. 麦芽発酵飲料がビール、発泡酒または低アルコール麦芽発酵飲料である請求の範囲第18項に記載の飲食物。

10 20. 茶飲料である請求の範囲第18項に記載の飲食物。

21. 飲食物中の請求の範囲第1項ないし第7項のいずれかに記載の化合物の含有量が、最終製品当たり $0.01\text{mg} \sim 100\text{mg/L}$ である請求の範囲第16ないし第20項に記載の飲食物。

22. 健康食品および/または特別用途食品である請求の範囲第16項に記載の飲食物。

15 23. 請求の範囲第1項ないし第7項のいずれかに記載の化合物、当該化合物を含有する天然物、天然物加工品および組成物を含有する、飲食物添加剤または医薬品。

24. ムスカリンM₃受容体に作用する請求の範囲第23項の飲食物添加剤または医薬品。

25 25. 消化管運動促進、胃酸分泌促進、排尿促進、食欲増進作用またはドリンカビリティー促進性の、飲食物、飲食物添加剤、医薬品、動物用飼料、あるいは、消化管運動促進剤またはドリンカビリティー促進剤を製造するための、ムスカリリンM₃受容体に作用する請求の範囲第1項ないし第7項のいずれかに記載の化合物、当該化合物を含有する天然物、天然物加工品および組成物の使用。

26. ムスカリリンM₃受容体に作用する消化管運動促進物質を含む天然物または天然物加工品が、酵母発酵産物、大麦、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物または麦芽根であることを特徴とする請求の範囲第25項に記載の使用。

27. 範囲第1項ないし第7項のいずれかに記載の化合物を含有する天然物、天然物加工品を出発材料とし、出発材料が固体の場合は抽出一固液分離一乾燥操作により、液体の場合には乾燥操作により揮発性成分を除いて非揮発性成分を回収し、疎水性吸着剤（合成吸着剤等）クロマトグラフィーにより非吸着部を除いて吸着部を回収し、活性物質が濃縮された粗精製画分を得、さらに陽イオン交換（弱酸性陽イオン交換樹脂等）クロマトグラフィーで非吸着部を除き、酸性メタノール（メタノール－塩酸）で活性物質を溶出し、次いで、0.01N－塩酸下においてゲル濾過クロマトグラフィーを行うことにより精製画分を得、さらに、ODS-HPLC（C₁₈－高速液体クロマトグラフィー）による高度精製を行うことを特徴とする請求の範囲第1項ないし第3項のいずれかに記載の化合物の分離精製方法。

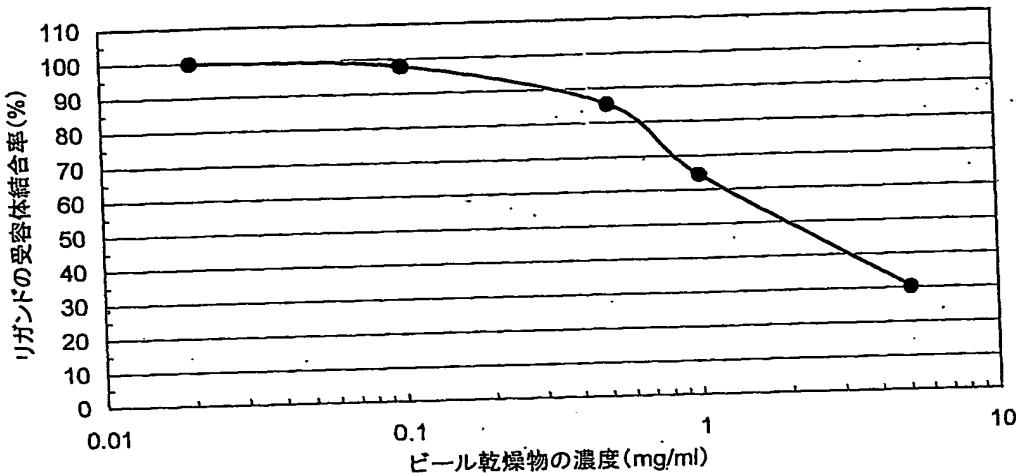
28. 出発材料が酵母発酵産物、大麦、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物または麦芽根であることを特徴とする請求の範囲27記載の分離精製方法。

29. 第13図のCDスペクトルを示す請求の範囲第2項に記載の化合物。

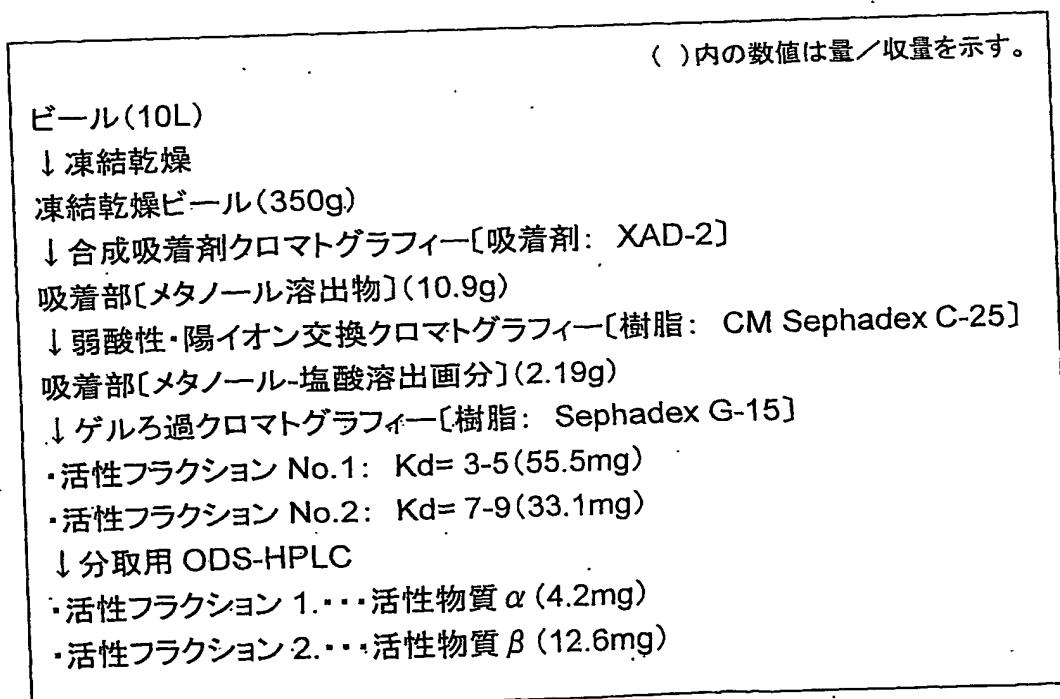
15 30. 第14図のCDスペクトルを示す請求の範囲第3項に記載の化合物。

1 / 10

第1図

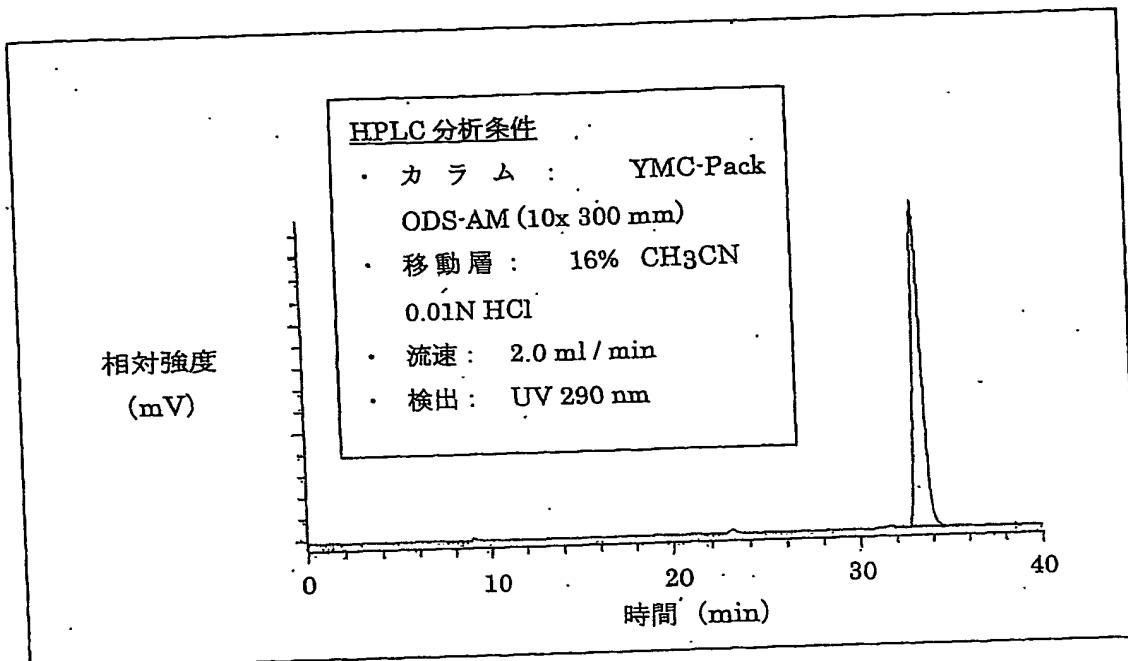


第2図

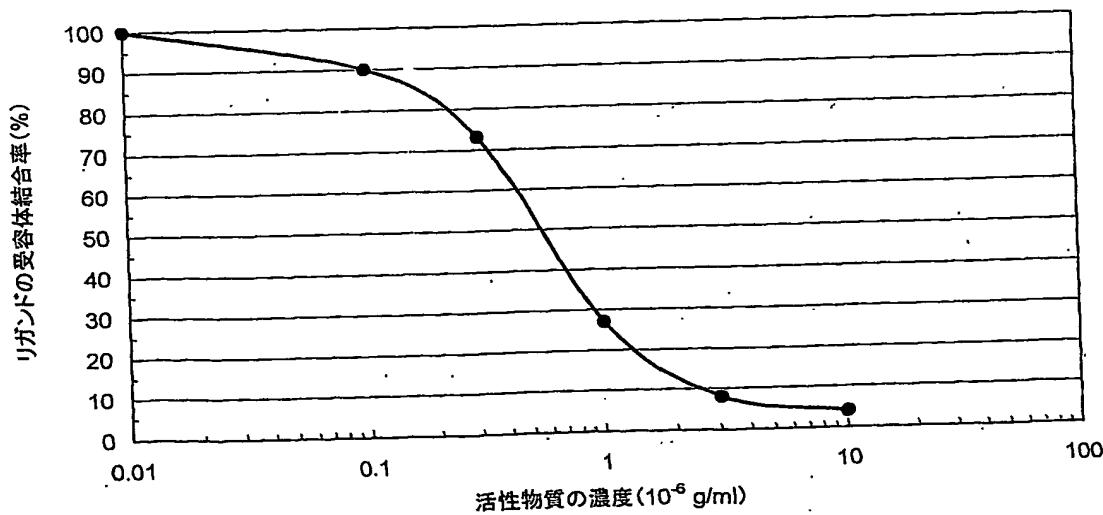


2 / 10

第3図

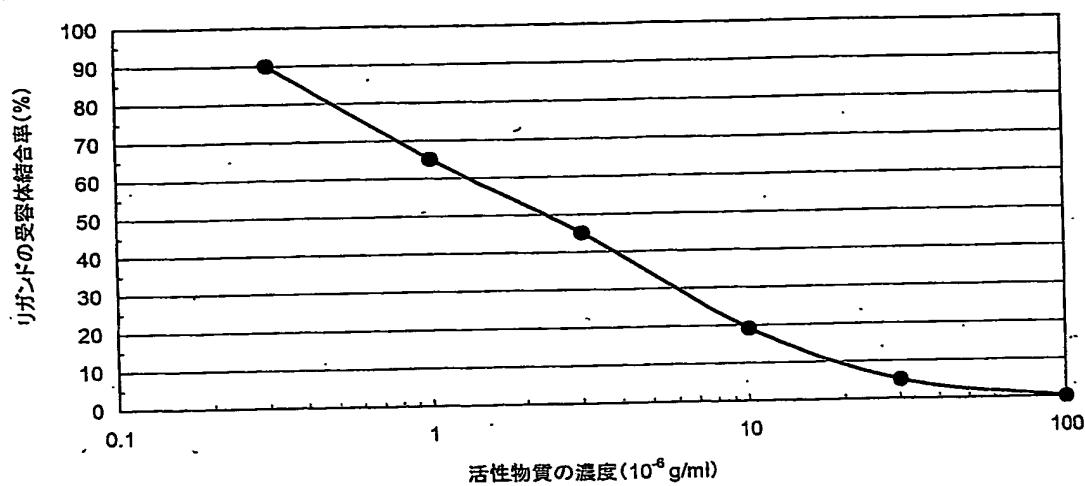


第4図



3 / 10

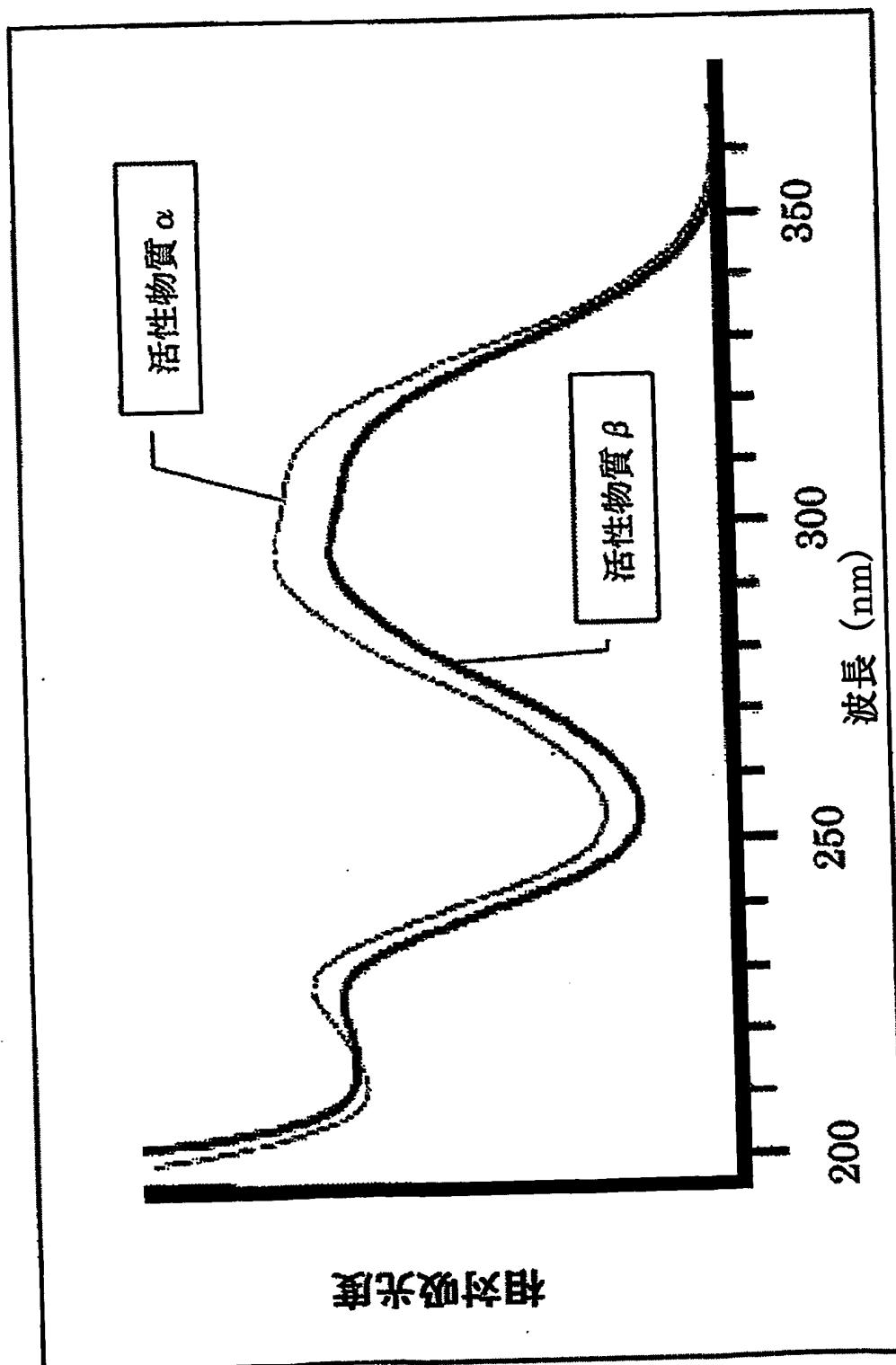
第5図



差替え用紙(規則26)

3/1/10

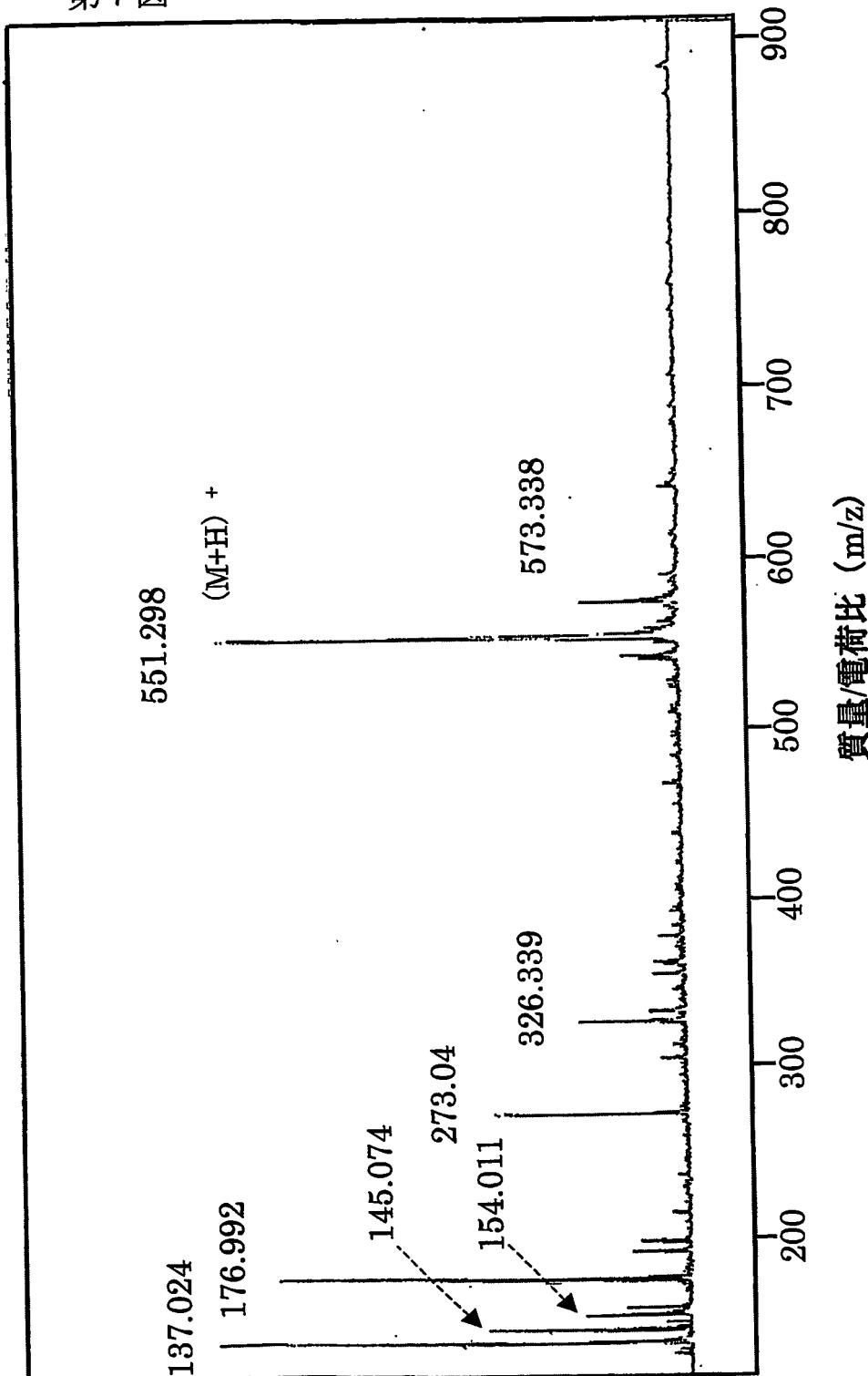
第6図



差替え用紙(規則26)

4 / 10

第7図

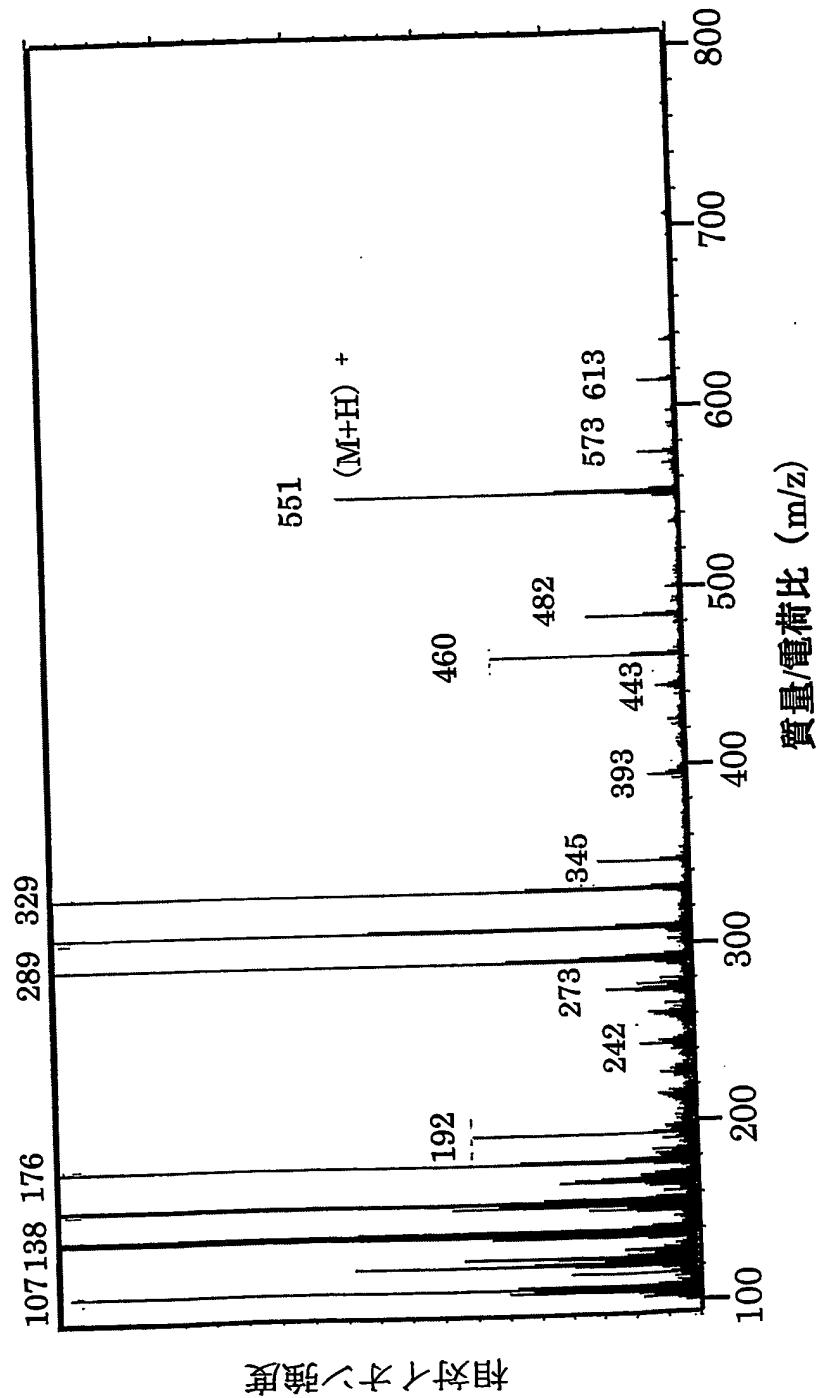


相模トキハ興業

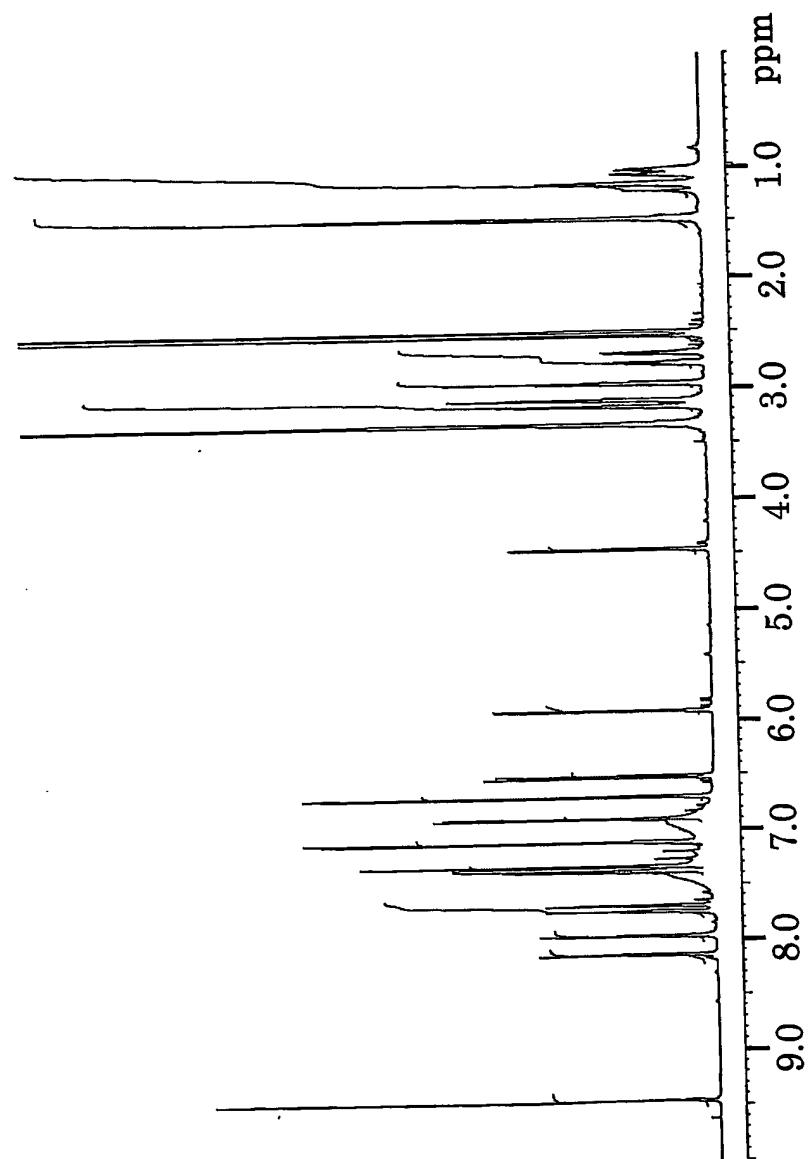
差替え用紙(規則26)

4/1/10

第8図



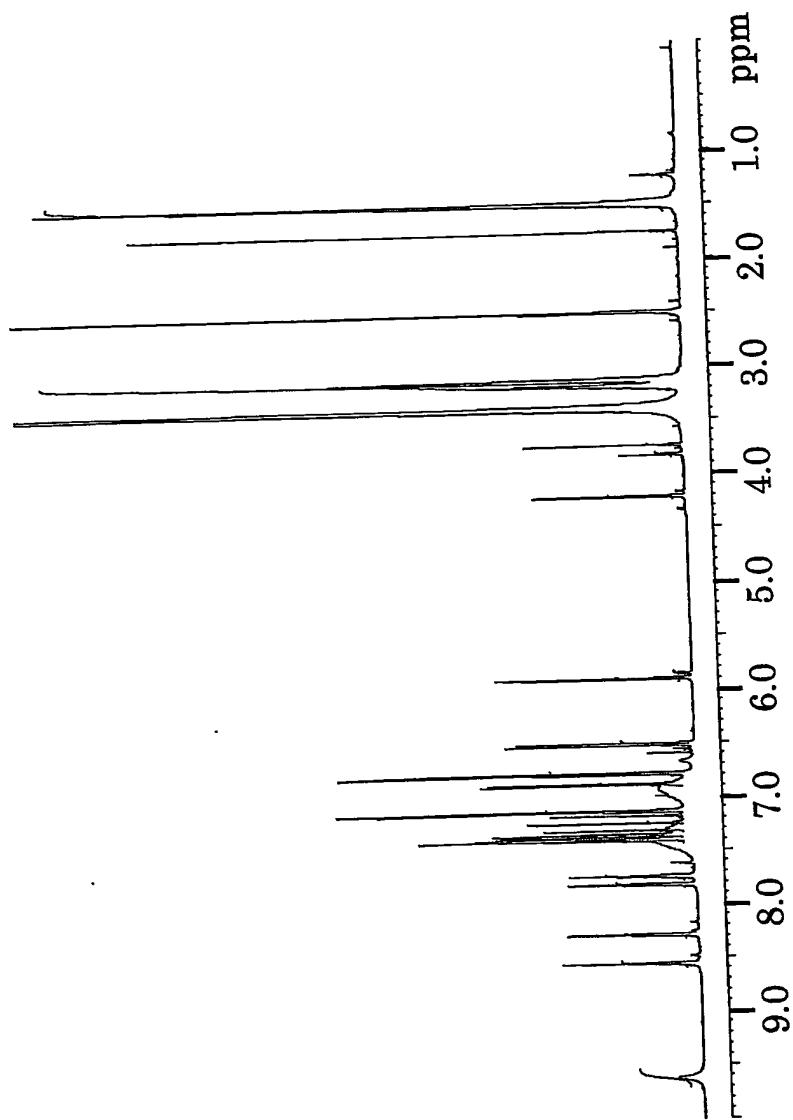
第9図



差替え用紙(規則26)

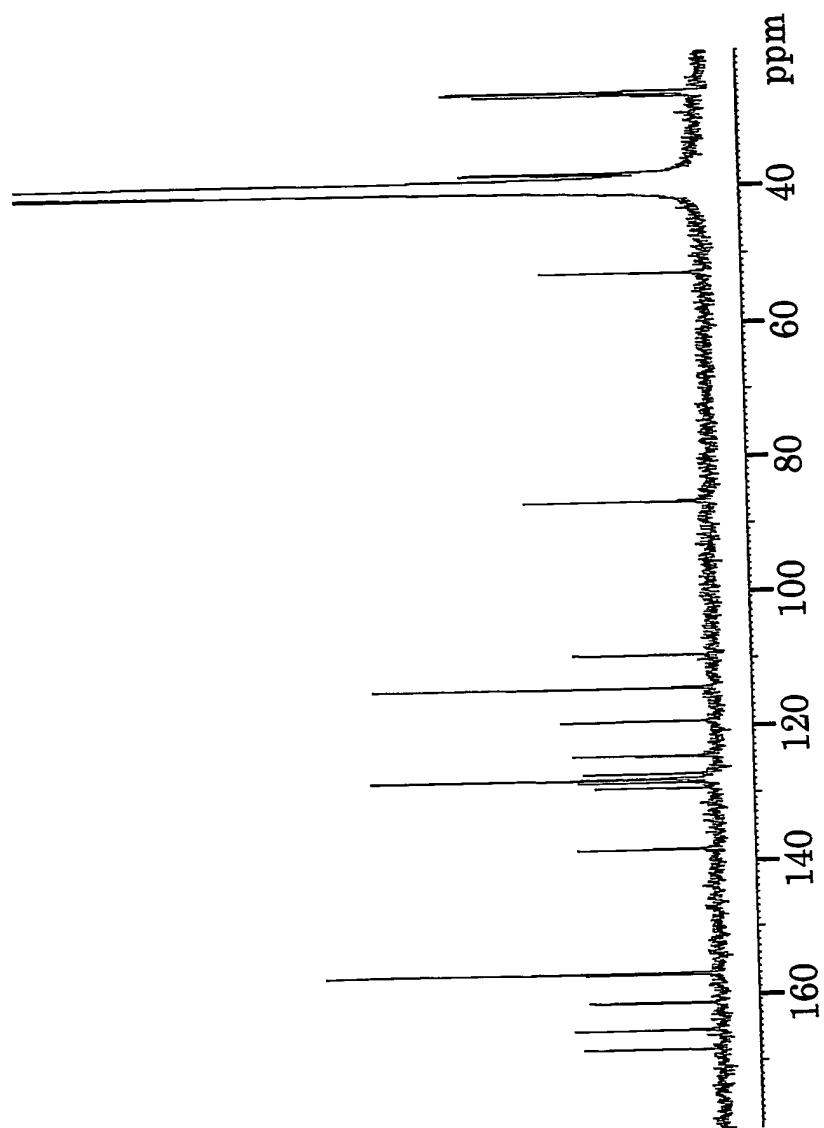
5/1/10

第10図



差替え用紙(規則26)

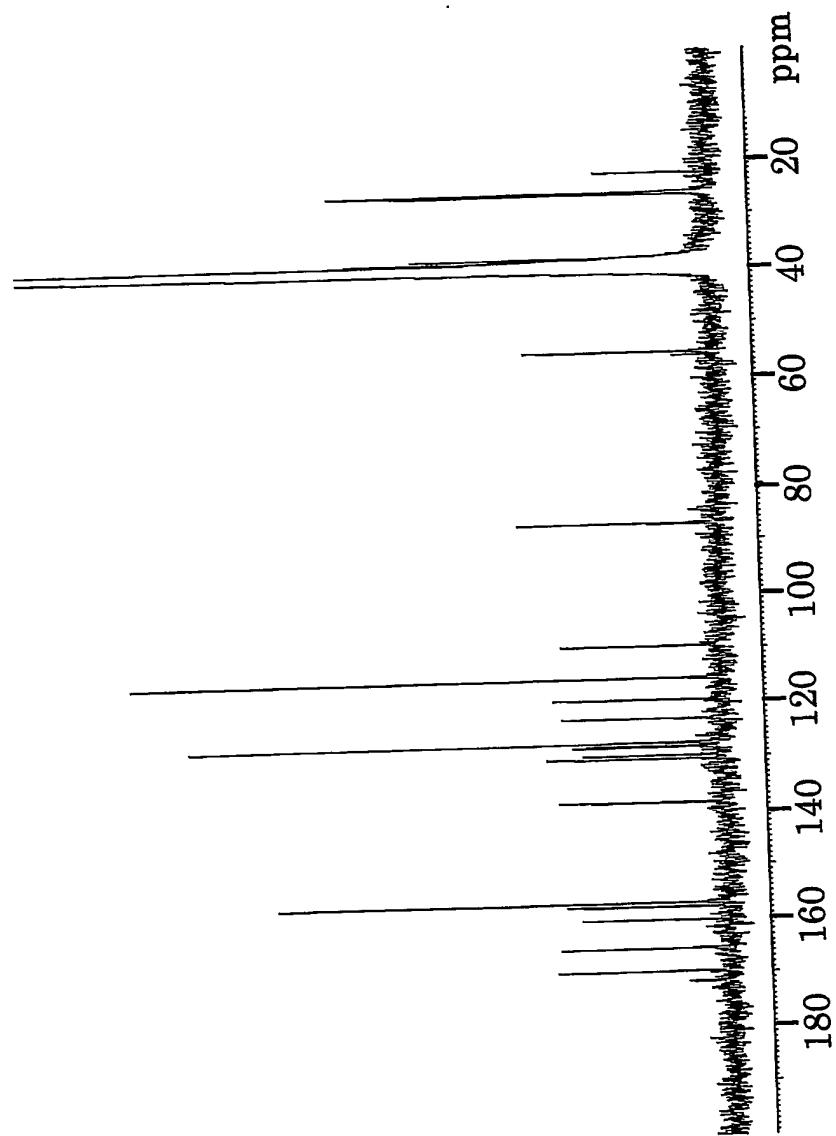
第 11 図



差替え用紙（規則26）

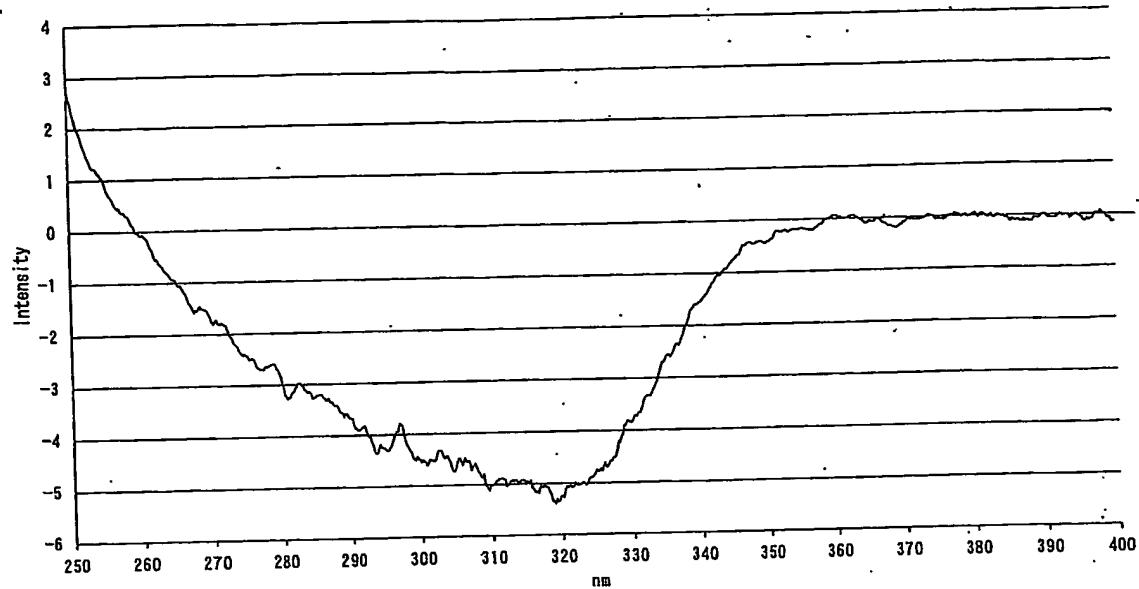
6 / 1 / 10

第12図

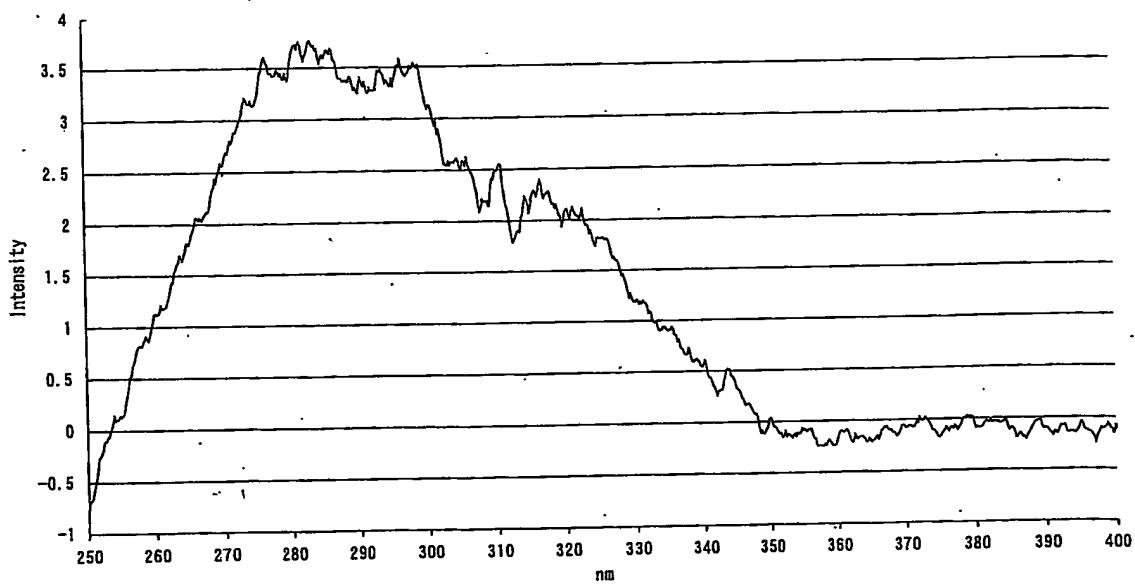


7 / 10

第13図

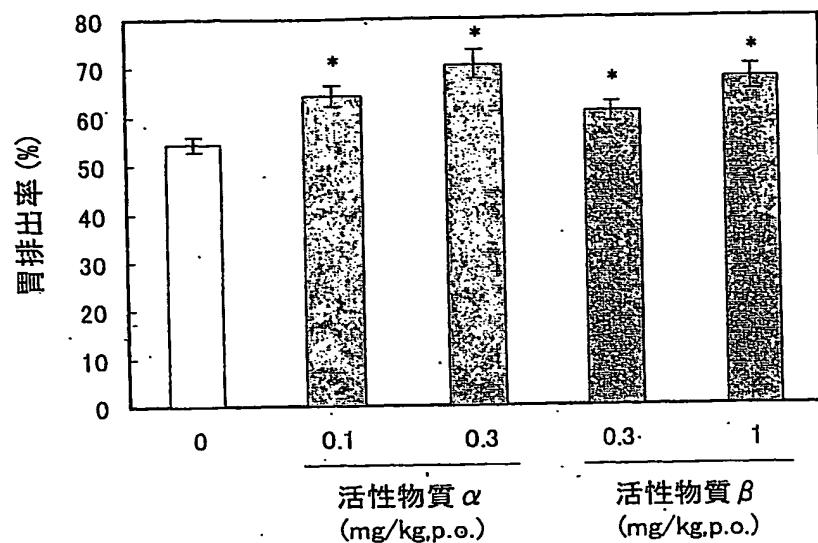


第14図

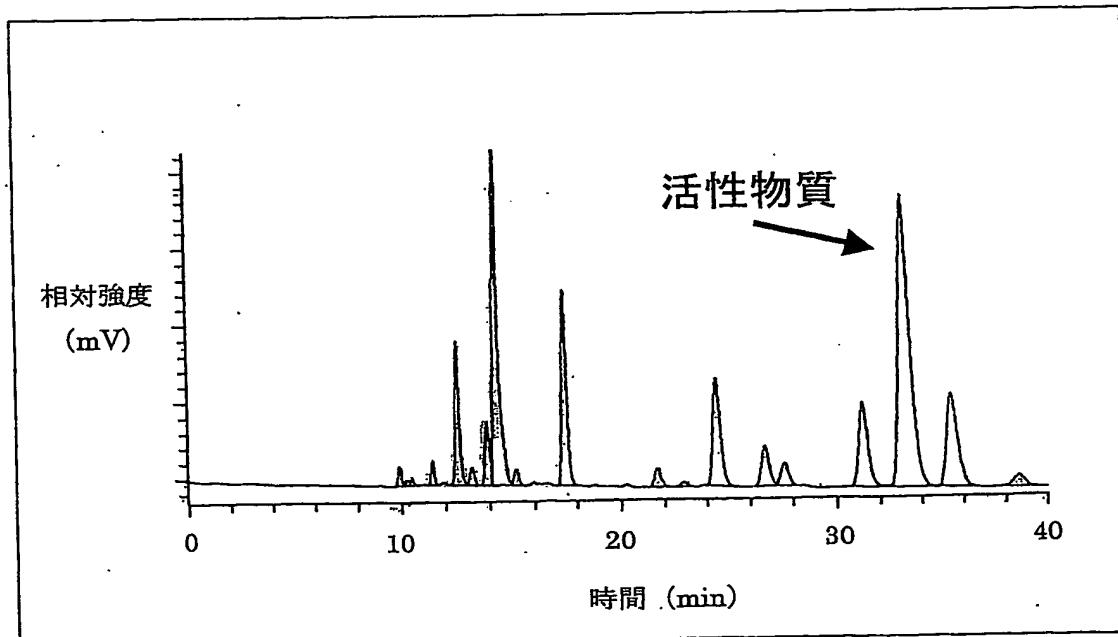


8 / 10

第15図

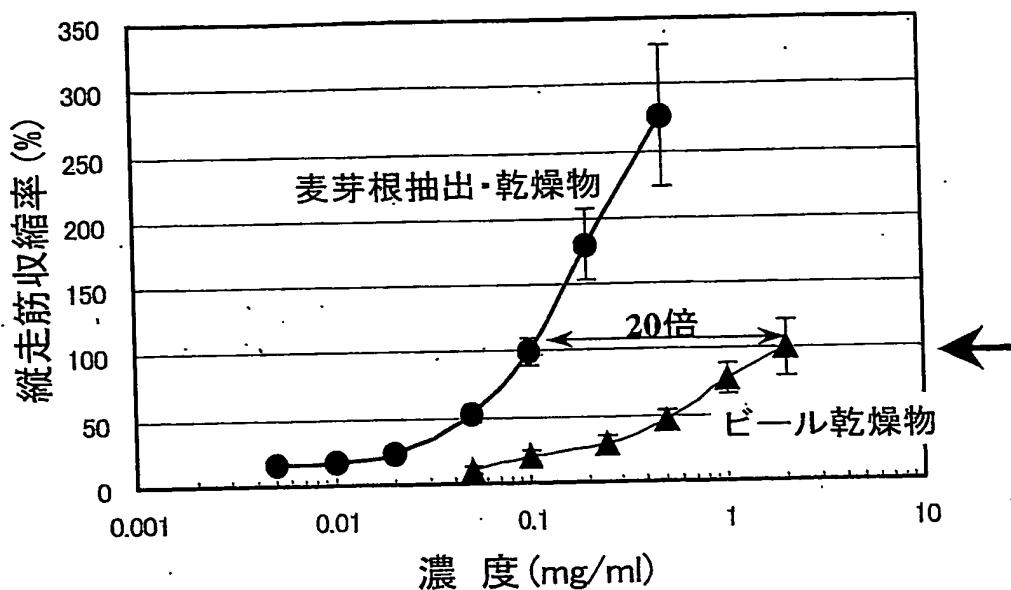


第16図

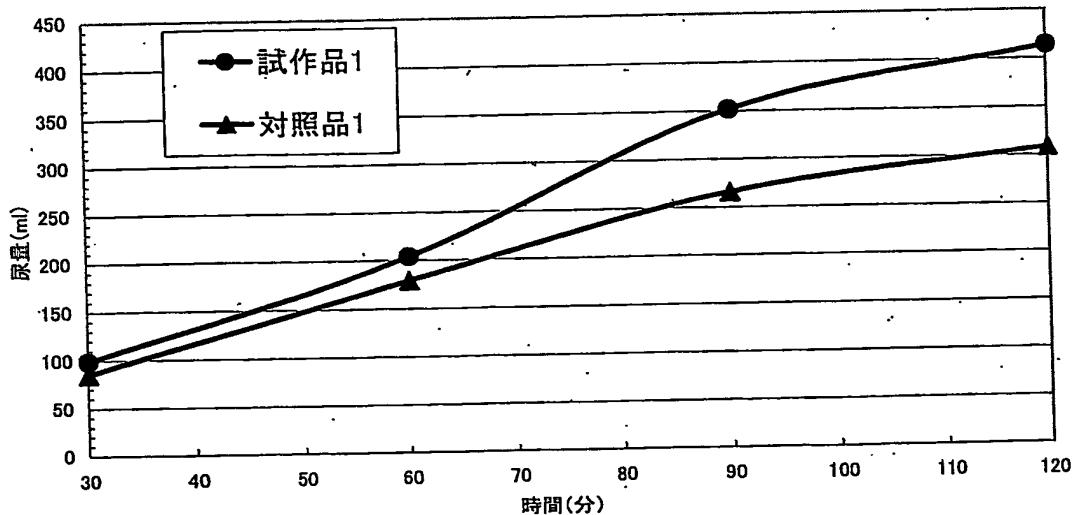


9 / 10

第17図

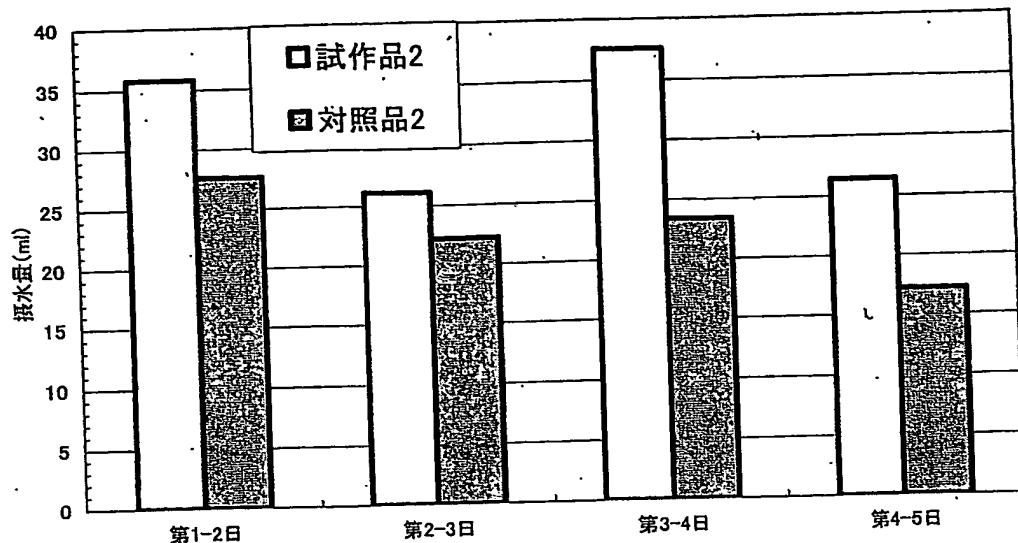


第18図

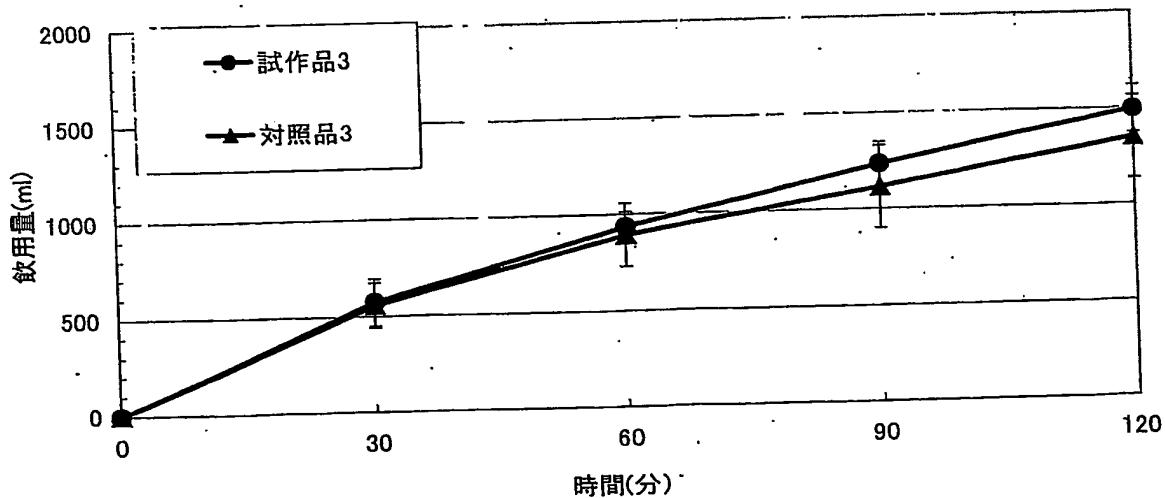


10 / 10

第19図



第20図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/JP03/08081

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07D307/84, A61K31/343, A23L1/30, 1/30, 1/28, 2/00,
 C12C5/00, C12G3/00, A61K35/72, 35/78, A61P1/00, 1/14,
 13/02, 43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07D307/84, A61K31/343, A23L1/30, 1/30, 1/28, 2/00,
 C12C5/00, C12G3/00, A61K35/72, 35/78

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 3475459 A (STOESSL, A.), 28 October, 1969 (28.10.69), (Family: none)	1-10 11-30
X	STOESSL, A. et al., "The antifungal factors in barley. V. Antifungal activity of the hordatines", Canadian Journal of Botany, Vol.48, No.3, 1970, pages 465 to 470	1-10 11-30
X	STOESSL, A., "The antifungal factors in barley. The constitution of hordatines A and B", Tetrahedron Letters, Vol.21, 1966, pages 2287 to 2292	1-10 11-30

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
11 August, 2003 (11.08.03)Date of mailing of the international search report
02 September, 2003 (02.09.03)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/08081

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FUJII, W. et al., "Beer congener stimulates gastrointestinal motility via the muscarinic acetylcholine receptors.", Alcohol Clin.Exp. Res., Vol.26, No.5, May 2002, pages 677 to 681	11-26, 29, 30
Y	Co-edited by Sainosuke OTSUKA, Mitsuaki MUKAIYAMA, "Fusei Gosei to Kogaku Bunkatsu no Shinpo", Kagaku special extra issue No.97, Kagaku-Dojin Publishing Co., Ltd., 15 October, 1982 (15.10.82), pages 157 to 159	27, 28

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' C07D 307/84, A61K 31/343, A23L 1/30, 1/28,
2/00, C12C 5/00, C12G 3/00, A61K 35/72, 35/78, A61P 1/00,
1/14, 13/02, 43/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' C07D 307/84, A61K 31/343, A23L 1/30, 1/28,
2/00, C12C 5/00, C12G 3/00, A61K 35/72, 35/78,

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), MEDLINE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	US 3475459 A (STOESSL, A.) 1969.10.28, (ファミリーなし)	1-10
Y		11-30
X	STOESSL, A. et al., "The antifungal factors in barley. V. Antifungal activity of the hordatines", Canadian Journal of Botany, Vol. 48, No. 3, 1970, p465-470	1-10
Y		11-30
X	STOESSL, A., "The antifungal factors in barley. The constitutions of hordatines A and B", Tetrahedron Letters, Vol. 21, 1966, p2287-2292	1-10
Y		11-30

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

11.08.03

国際調査報告の発送日

02.09.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

安藤 倫世

4 P 3230



電話番号 03-3581-1101 内線 3451

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	FUJII W. et al., "Beer congeners stimulates gastrointestinal motility via the muscarinic acetylcholine receptors.", Alcohol Clin Exp Res. Vol. 26, No. 5, 2002 May, p677-681	11-26, 29, 30
Y	大塚齋之助・向山光昭 共編, 不斉合成と光学分割の進歩, 化学増刊97号, 化学同人, 1982.10.15, p157-159	27, 28

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.